



**HAL**  
open science

# Traitement des mammites bovines à *Streptococcus uberis* : comparaison de deux protocoles thérapeutiques lors de cas chroniques non sévères en lactation

Léonore Dupont

► **To cite this version:**

Léonore Dupont. Traitement des mammites bovines à *Streptococcus uberis* : comparaison de deux protocoles thérapeutiques lors de cas chroniques non sévères en lactation. Médecine vétérinaire et santé animale. 2024. dumas-04747856

**HAL Id: dumas-04747856**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04747856v1>**

Submitted on 22 Oct 2024

**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.

# TRAITEMENT DES MAMMITES BOVINES À *STREPTOCOCCUS UBERIS* : COMPARAISON DE DEUX PROTOCOLES THÉRAPEUTIQUES LORS DE CAS CHRONIQUES NON SÉVÈRES EN LACTATION

---

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

**DUPONT Léonore, Louise**

**Directeur de thèse : M. Laurent-Xavier NOUVEL**

---

## JURY

PRESIDENTE :

**Mme Aude FERRAN**

Professeure à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :

**M. Laurent-Xavier NOUVEL**

**M. Maxime FUSADE-BOYER**

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

**M. Nicolas HERMAN**

Vétérinaire diplômé de l'European College of Bovine Health Management



**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation  
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

**Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire**

**Directeur : Professeur Pierre SANS**

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*

**PROFESSEURS 2<sup>ème</sup> CLASSE**

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

## **MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

## **MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **COMBARROS Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **FUSADE-BOYER**, *Microbiologie et infectiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

## **INGENIEURS DE RECHERCHE**

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
- M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
- Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **DELPONT Mattias**, *Clinique Aviaire*
- Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
- Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
- Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
- Mme **LAYSSOL-LAMOUR Catherine**, *Imagerie Médicale*
- Mme **POUJADE Agnès**, *Anatomie pathologique Vétérinaire*
- Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **RAMON PORTUGAL Felipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*
- Mme **SAADA Chloé**, *Gestion intégrée de la santé des ruminants*

## REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Docteur Xavier Nouvel**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Pathologie de la Reproduction

*Pour sa disponibilité, sa relecture attentive et ses conseils avisés.  
Mes très sincères remerciements.*

**A Madame la Docteure Aude Ferran**

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Physiologie

*Qui me fait l'honneur de présider ce Jury de thèse.  
Hommages respectueux.*

**A Monsieur le Docteur Maxime Fusade-Boyer**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Microbiologie et Infectiologie

*Qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être assesseur pour cette thèse.  
Sincères remerciements.*

**A Monsieur le Docteur Nicolas Herman**

Vétérinaire diplômé de l'European College of Bovine Health Management

*Qui me fait l'honneur de sa participation à la soutenance et pour son implication dans  
l'existence de ce travail, sa disponibilité et ses précieux conseils.  
Très profonds remerciements.*

*Remerciements sincères à Hélène Daniels et Jean-Philippe Jaeg pour leur disponibilité et leurs  
conseils avisés.*

# TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES .....	8
LISTE DES TABLEAUX .....	9
LISTE DES ABREVIATIONS.....	10
INTRODUCTION.....	11
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....	13
I.    Mammites : description, fréquence, coût, mesures de contrôle et enjeux en élevage..	13
A.    Mécanismes physiopathologiques de la mammite, étiologie et facteurs de risque ..	13
i.    Mécanismes physiopathologiques.....	13
ii.    Etiologie : principaux micro-organismes à l'origine de mammites (Watts 1988; Kalińska, Gołębiowski, Wójcik 2017) .....	19
iii.    Facteurs de risque.....	24
B.    Epidémiologie : contagiosité, fréquence et répartition, du niveau troupeau au niveau mondial.....	27
i.    Modèles épidémiologiques.....	28
ii.    Fréquence des différents agents pathogènes .....	29
C.    Principes de traitement, pronostic et mesures de contrôle et de prévention .....	32
i.    Principes de traitement des mammites en lactation .....	32
ii.    Principes de traitement au tarissement .....	37
iii.    Facteurs influençant la probabilité de guérison.....	39
iv.    Mesures de contrôle et de prévention.....	39
D.    Enjeux en élevage : coût, santé publique, exigences règlementaires, bien-être animal et humain .....	43
i.    Exigences règlementaires .....	43
ii.    Pertes économiques pour l'éleveur.....	44
iii.    Risques en santé publique .....	46
iv.    Antibiorésistances connues et suspectées .....	46
v.    Impact sur le bien-être animal et humain .....	50
II.    Focus sur les mammites à <i>Streptococcus uberis</i> .....	50
A.    La bactérie <i>Streptococcus uberis</i> .....	51
i.    Carte d'identité .....	51
ii.    Facteurs de virulence.....	51
B.    Principales méthodes d'identification à partir du lait.....	53
i.    Culture sur milieu gélosé et tests biochimiques .....	54
ii.    Spectrométrie de masse .....	56
iii.    PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) en laboratoire.....	57

iv.	Analyseurs portables en clinique vétérinaire .....	58
C.	Caractéristiques des mammites à <i>Streptococcus uberis</i> .....	59
i.	Expression clinique .....	59
ii.	Influence des facteurs de virulence .....	60
iii.	Modèle épidémiologique : un réservoir mixte .....	61
D.	Traitement et prévention des mammites à <i>Streptococcus uberis</i> .....	61
i.	Traitement en lactation : principes et limites .....	61
ii.	Traitement hors lactation .....	66
iii.	Prévention.....	67
E.	Estimation des coûts et des pertes spécifiquement liés à ce pathogène .....	68
F.	Antibiorésistances connues et suspectées chez <i>Streptococcus uberis</i> .....	69
III.	Enjeux et défis d'une antibiothérapie adaptée aux mammites chroniques à <i>Streptococcus uberis</i> , objectifs de cette étude .....	71
A.	L'ancienneté de l'infection influence significativement la probabilité de guérison des mammites à <i>Streptococcus uberis</i> .....	72
B.	Comparaison des voies parentérale et intra-mammaire, résidus antibiotiques .....	72
i.	Avantages et inconvénients de chaque voie .....	72
ii.	Résidus antibiotiques.....	73
C.	Objectifs .....	75
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....		77
I.	Matériel et méthodes .....	78
A.	Protocole expérimental.....	78
i.	Sélection des cas.....	78
ii.	Identification pré-traitement de <i>Streptococcus uberis</i> et détermination de la CMI vis-à-vis de la pénicilline G.....	81
iii.	Protocoles A ou B en répartition aléatoire.....	84
iv.	Bactériologie post-traitement à la clinique.....	86
B.	Sélection des cliniques et élevages participants .....	86
i.	Cliniques participantes .....	86
ii.	Elevages participants .....	86
iii.	Financement de l'étude .....	87
C.	Méthodologie statistique .....	87
i.	Principe d'un essai de supériorité.....	87
ii.	Nombre de sujets nécessaires .....	88
iii.	Corrélation entre la CMI Etest® et le taux de guérison bactériologique .....	89
II.	Résultats .....	90
A.	Guérison bactériologique .....	90
i.	Analyse descriptive .....	90



ii.	Analyse statistique.....	91
B.	CMI Etest® .....	92
i.	Analyse descriptive .....	92
ii.	Analyse statistique.....	93
C.	Résultats donnés par Mastatest® .....	94
i.	Résultats étiologiques.....	94
ii.	CMI vis-à-vis de la benzylpénicilline .....	95
D.	Comptages cellulaires somatiques individuels post-traitement .....	97
III.	Discussion et perspectives.....	97
A.	Biais et limites éventuels.....	98
i.	Effectif.....	98
ii.	Choix du protocole .....	98
iii.	Représentativité de l'échantillon.....	100
iv.	Limites du protocole combiné.....	102
B.	Interprétation et pistes d'explication des résultats .....	102
i.	Guérison bactériologique .....	102
ii.	Comptages cellulaires post-traitement .....	107
iii.	Sensibilité de <i>S. uberis</i> vis-à-vis de la pénicilline G, corrélation de la CMI et de la probabilité de guérison bactériologique .....	107
iv.	Fiabilité du Mastatest® .....	108
C.	Applications de ces résultats dans la pratique des vétérinaires et des éleveurs .....	109
i.	Traitement préconisé .....	109
ii.	Intérêt économique du traitement.....	109
iii.	Intérêt du traitement au regard de la lutte contre l'antibiorésistance .....	110
iv.	Habitudes des vétérinaires français .....	111
D.	Ouverture : Pistes de traitements futurs autres que les antibiotiques.....	112
	CONCLUSION .....	114
	BIBLIOGRAPHIE .....	116
	ANNEXES .....	143

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Conformation intérieure des mamelles de la vache, coupe transversale passant par les quartiers caudaux (Barone, Anatomie comparée des animaux domestiques, 1968).....	15
Figure 2 : Conformation et structure du trayon chez la vache (Barone, Anatomie comparée des animaux domestiques, 1968).....	16
Figure 3 : Systèmes de défense immunitaire de la mamelle de la vache et leur localisation (Bergonier, Les mammites de la vache laitière : épidémiologie analytique et synthétique, 2022).....	17
Figure 4 : Catégorisation des substances antibiotiques selon la priorité d'utilisation (European Medicines Agency, 2019).....	34
Figure 5 : Excrétion de la pénicilline dans le lait ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) en fonction de la fréquence de traite (3, 2 et 1,5 fois par jour), cinq vaches par groupe. (Knappstein K, Suhren G, Walte H-G ; Influence of milking frequency on withdrawal period after application of $\beta$ -lactam antibiotic-based drugs, Analytica Chimica Acta 483 241–249, 2003).....	74
Figure 6 : Présentation des protocoles A et B (production personnelle, 2024).....	85
Figure 7 : Hypothèses et règles de décision d'un essai de supériorité (Herr, Descatha, Aegerter, Essais de non-infériorité et d'équivalence : points clés de méthodologie, 2017).....	88
Figure 8 : Diagramme camembert présentant les résultats étiologiques donnés par le Mastatest® sur des souches identifiées comme <i>Streptococcus uberis</i> par la méthode des géloses (production personnelle, 2024).....	94
Figure 9 : Calcul du coefficient kappa de Cohen à partir des résultats d'identification bactérienne du Mastatest®, vis-à-vis de la méthode de référence sur géloses (production personnelle via Microsoft Excel®, 2024).....	95
Figure 10 : Structure moléculaire en deux dimensions du pénéthamate (National Center for Biotechnology Information 2024a).....	104
Figure 11 : Structure moléculaire en deux dimensions de la pénicilline G (National Center for Biotechnology Information 2024b).....	105
Figure 12 : Répartition des concentrations de la forme basique et de la forme acide d'une molécule en fonction de son pKa et du pH du compartiment (Alain-Bousquet Mélou, La distribution des médicaments, 2019).....	106

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Echelle de sévérité individuelle de la mammité (Angoujard, Enquête sur le diagnostic et le traitement des mammites de la vache laitière par les vétérinaires de terrain en France en 2015, 2015).....	13
Tableau 2 : Prévalence des principaux agents pathogènes lors de mammites bovines dans plusieurs endroits du monde (production personnelle, 2024).....	31
Tableau 3 : Distribution brute et corrigée des pathogènes isolées dans respectivement 2087 cas et 1208 cas de mammites cliniques en France (Salat O, Lemaire G, Durel L, Perrot F ; Etiology of severe mastitis in French dairy herds. PLoS ONE 18(12): e0295614., 2023).....	32
Tableau 4 : Voies d'administration des antibiotiques mammaires : avantages et inconvénients (Rémy, Les mammites, 2010).....	35
Tableau 5 : Proportions de résistances par antibiotiques, souches de <i>Streptococcus uberis</i> isolées de mammites bovines en France en 2022 (Resapath, 2024).....	69
Tableau 6 : Répartition des cas entre les différentes cliniques (production personnelle, 2024)..	91
Tableau 7 : Valeurs de CMI de 95 souches de <i>S. uberis</i> vis-à-vis de la benzylpénicilline données par Etest® et provenance de chaque cas (production personnelle, 2024).....	93
Tableau 8 : Valeurs de CMI de 74 souches de <i>S. uberis</i> vis-à-vis de la benzylpénicilline données par Mastatest® et provenance de chaque cas (production personnelle, 2024).....	96
Tableau 9 : Sensibilité, Spécificité, Valeur Prédictive Positive et Valeur Prédictive Négative de la CMI de <i>Streptococcus uberis</i> vis-à-vis de la benzylpénicilline donnée par Mastatest® (production personnelle, 2024).....	96
Tableau 10 : Moyenne et intervalle de confiance à 95% des CCSI post-traitement considérant différents groupes (production personnelle, 2024).....	97

## LISTE DES ABREVIATIONS

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

CCL20 : Chémokine (motif C-C) Ligand 20

CCR6 : Récepteur à Chémokine (motif C-C) de type 6

CCSI : Concentration Cellulaire Somatique Individuelle

CLSI : Clinical Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMT : California Mastitis Test

CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière

*E. coli* : *Escherichia coli*

Gram - : Bactérie à coloration de Gram négative

Gram + : Bactérie à coloration de Gram positive

HT : Hors Taxes

IFN- $\gamma$  : Interféron gamma

IgG1 : Immunoglobuline de type G1

IL-6 : Interleukine 6

IL-17A : Interleukine 17A

IL-17F : Interleukine 17F

LIAL : Laboratoire Interprofessionnel d'Analyse Laitières

LMR : Limite Maximale de Résidus

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

Resapath : Réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales

*S. agalactiae* : *Streptococcus agalactiae*

*S. aureus* : *Staphylococcus aureus*

SCN : Staphylocoques Coagulase-Négatifs

*S. dysgalactiae* : *Streptococcus dysgalactiae*

*S. uberis* : *Streptococcus uberis*

TNF- $\alpha$  : Facteur de Nécrose Tumorale alpha (Tumor Necrosis Factor alpha)

UI : Unité Internationale

## INTRODUCTION

Les mammites en élevage bovin laitier représentent une dominante pathologique majeure et ont une influence importante sur la rentabilité économique de l'atelier, la consommation d'antibiotiques ainsi que le bien-être animal et humain (Ruegg 2017; Gomes, Henriques 2016; Cheng, Han 2020; Hogeveen, Steeneveld, Wolf 2019).

Il s'agit de la première pathologie mondiale en termes d'incidence en élevage laitier.

sein d'un troupeau ont déjà été largement étudiées pour cette bactérie, et certains travaux récents ont exploré l'émergence éventuelle de résistance aux antibiotiques (Zadoks et al. 2001; 2003; McDougall et al. 2004; Wentz et al. 2019; Samson, Schmitt, Gaudout, Cousin, et al. 2016; Miotti et al. 2023). A partir de ces différents éléments, il nous a donc paru pertinent de nous intéresser plus particulièrement aux abords thérapeutiques possibles des mammites à *Streptococcus uberis*.

La première partie de ce manuscrit présente une étude bibliographique des mammites chez la vache laitière. Les différents agents pathogènes rencontrés, les facteurs de risque et les coûts liés à ces infections sont abordés avec une emphase particulière sur *Streptococcus uberis* et les caractéristiques des mammites causées par cette bactérie. Cette étude comporte un état des lieux des niveaux d'antibiorésistance connus ou suspectés parmi les germes à l'origine de mammites.

La seconde partie de ce travail présente les premiers résultats d'un essai thérapeutique réalisé au cours de cette thèse avec pour objectif de comparer l'efficacité de deux protocoles de traitement des mammites chroniques à *Streptococcus uberis* chez la vache laitière en lactation : l'un comportant un antibiotique par voie générale et l'autre non. La détermination d'une concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque souche identifiée vis-à-vis de la pénicilline G, la corrélation avec le taux de guérison bactériologique et les performances du Mastatest® sont également évaluées. Cet essai a pu être mené grâce à la participation de vétérinaires praticiens et des éleveurs de leur clientèle dans le Cantal (Saint-Flour, Riom-ès-Montagnes) et la Haute-Savoie (Valleiry).

# PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

## I. Mammites : description, fréquence, coût, mesures de contrôle et enjeux en élevage

### A. Mécanismes physiopathologiques de la mammite, étiologie et facteurs de risque

#### i. Mécanismes physiopathologiques

##### 1. Définition

Une mammite se définit comme « une inflammation de la mamelle intéressant la plupart du temps un seul quartier et ayant pour cause une colonisation ascendante par un agent infectieux, le plus souvent bactérien, qui pénètre dans la mamelle en remontant par le sphincter du trayon » (Bergonier 2022a).

Les mammites peuvent être classées en mammites cliniques ou subcliniques selon l'intensité de l'inflammation (Tableau 1).

Tableau 1 : Echelle de sévérité individuelle de la mammite (Angoujard, Enquête sur le diagnostic et le traitement des mammites de la vache laitière par les vétérinaires de terrain en France en 2015, 2015).

Symptômes / Syndromes	Mammite subclinique	Mammite clinique à sévérité variable		
		Faible Grade 1	Modérée Grade 2	Sévère Grade 3
Augmentation des concentrations cellulaires somatiques individuelles (CCSI)	+	+	+	+
Modifications du lait	-	+	+	+
Modifications du quartier	-	-	+	+
Altération de l'état général	-	-	-	+

Les mammites subcliniques se définissent par une altération de la qualité du lait (augmentation du nombre de cellules somatiques) sans modification macroscopique de celui-ci. Elles sont diagnostiquées grâce aux comptages cellulaires somatiques individuels (CCSI) : une vache est considérée comme atteinte lorsque la valeur d'un comptage dépasse un certain seuil, généralement fixé entre 200 000 et 300 000 cellules/mL selon les auteurs (Schepers et al. 1997; Bonestroo et al. 2021).

Le California Mastitis Test ou CMT peut fournir une estimation semi-quantitative du comptage cellulaire. Un réactif, l'hydroxyde de sodium, fait éclater les cellules présentes dans le lait et réagit avec leur ADN pour former un gel plus ou moins épais. Les leucocytes sont ainsi mis en évidence, ce qui permet d'identifier des mammites subcliniques. Il faut cependant être prudent car des faux négatifs sont possibles, la manipulation est très dépendante de l'opérateur et des variations physiologiques du lait peuvent fausser l'interprétation notamment en début et en fin de lactation (Dingwell et al. 2003; Sargeant et al. 2001; Rossi et al. 2018).

La mesure de la conductivité électrique du lait permet également de détecter des mammites subcliniques. En effet, elle augmente en cas de mammite car la composition ionique du lait est perturbée et s'enrichit notamment en ions chlorure et sodium. Cette mesure doit cependant être considérée avec précaution car de nombreux biais existent (Musser et al. 1998).

Une mammite est dite clinique dès lors qu'il y a une modification visible à l'œil nu du lait (grumeaux, lait paraissant dilué notamment). Une mammite clinique de grade 1 est caractérisée par une modification du lait uniquement ; une mammite clinique de grade 2 se définit par une altération de l'aspect du lait ainsi que des signes d'inflammation sur la mamelle (douleur, chaleur, gonflement), tandis que le grade 3 ou mammite clinique sévère présente en plus une atteinte de l'état général de la vache (dont hyperthermie, abattement, anorexie) (Rémy 2010; Angoujard 2015). Le diagnostic de ces mammites est par définition clinique mais s'appuie également sur les comptages cellulaires, éventuellement sur le CMT et la mesure de conductivité du lait.

Les infections mammaires sont des atteintes multifactorielles par excellence. La survenue et la gravité d'une mammite dépendent de trois paramètres : la virulence et la quantité de microorganismes, l'efficacité de la réponse immunitaire de la mamelle, et la présence de facteurs de risque liés à l'environnement (Leelahapongsathon et al. 2020).

## 2. Anatomie

Le pis de la vache est composé de deux paires de mamelles séparées par le sillon inter-mammaire, formant quatre quartiers. La division entre les quartiers avant et arrière est faite par une fine membrane conjonctive. Chaque quartier est anatomiquement indépendant des autres. De ce fait, une mammite peut n'intéresser qu'un seul quartier, les autres demeurant sains.

La mamelle est abondamment irriguée par deux artères, une de chaque côté : les artères honteuses externes. On dénombre trois gros vaisseaux qui repartent du pis : la veine honteuse externe, la veine mammaire crâniale et la veine honteuse interne.

La mamelle possède également un système lymphatique qui permet notamment l'afflux important de polynucléaires neutrophiles en cas d'infection. La lymphe passe par les nœuds lymphatiques rétro-mammaires puis est drainée vers le bassin. Lorsque la lymphe ne peut pas sortir du système mammaire, un œdème se forme, ce qui peut arriver quand une trop grande quantité de lait comprime les vaisseaux lymphatiques (Degueurce 2004).

A l'extrémité distale de chaque quartier se trouve un trayon composé d'une citerne du trayon en communication avec la citerne de la glande via le relief annulaire. A son extrémité se situe le conduit papillaire ou canal du trayon (Figure 1). La muqueuse du trayon contient des fibres musculaires lisses qui participent à l'excrétion du lait. L'ostium papillaire conduit au canal du trayon. Il mesure un centimètre de long. A l'entrée du canal, les plis de la muqueuse sont



particulièrement nombreux : ils forment la rosette de Fürstenberg, un filtre passif empêchant la pénétration d'un certain nombre d'agents pathogènes (Figure 2). A l'extrémité du canal, le sphincter, un muscle lisse circulaire, permet la fermeture de celui-ci (Mogicato 2019).

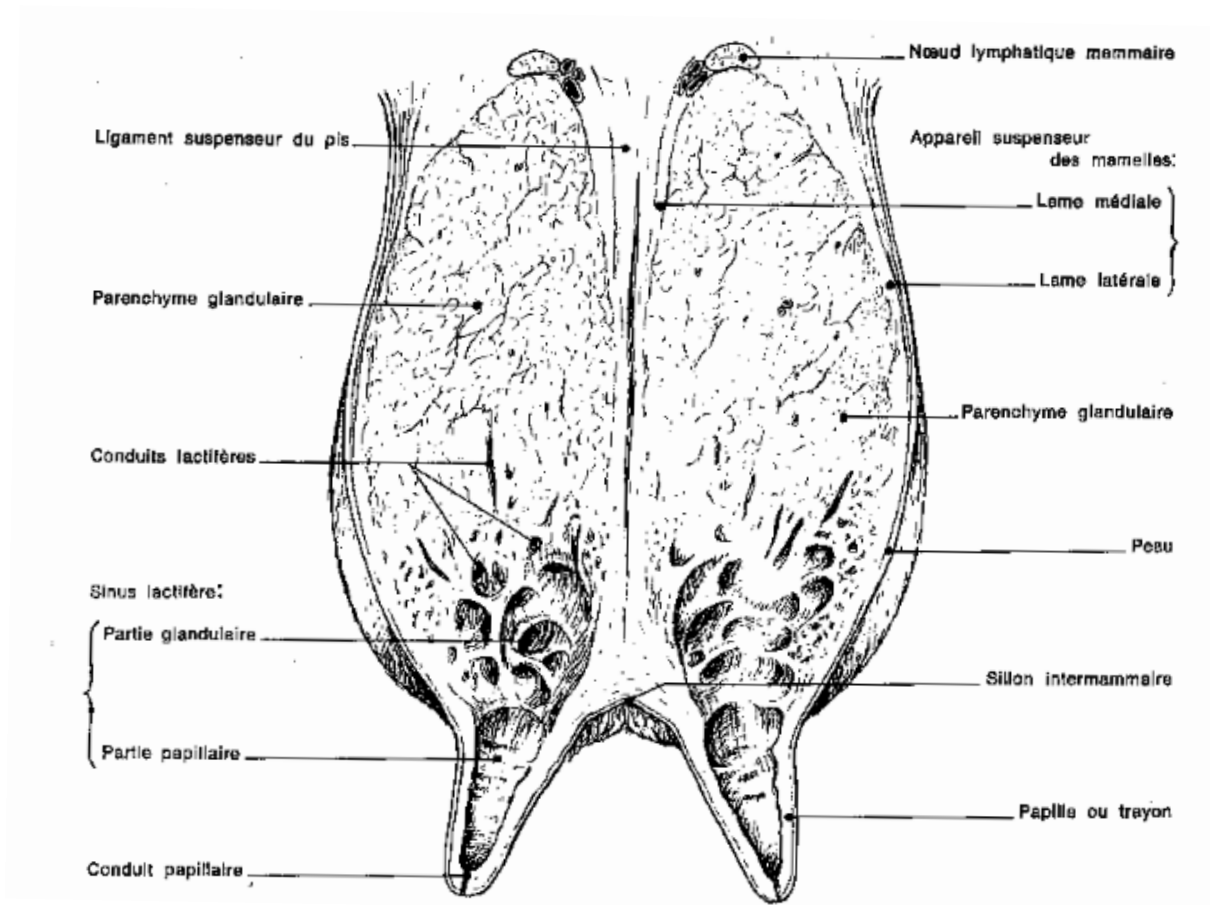


Figure 1 : Conformation intérieure des mamelles de la vache, coupe transversale passant par les quartiers caudaux (Barone, Anatomie comparée des animaux domestiques, 1968).

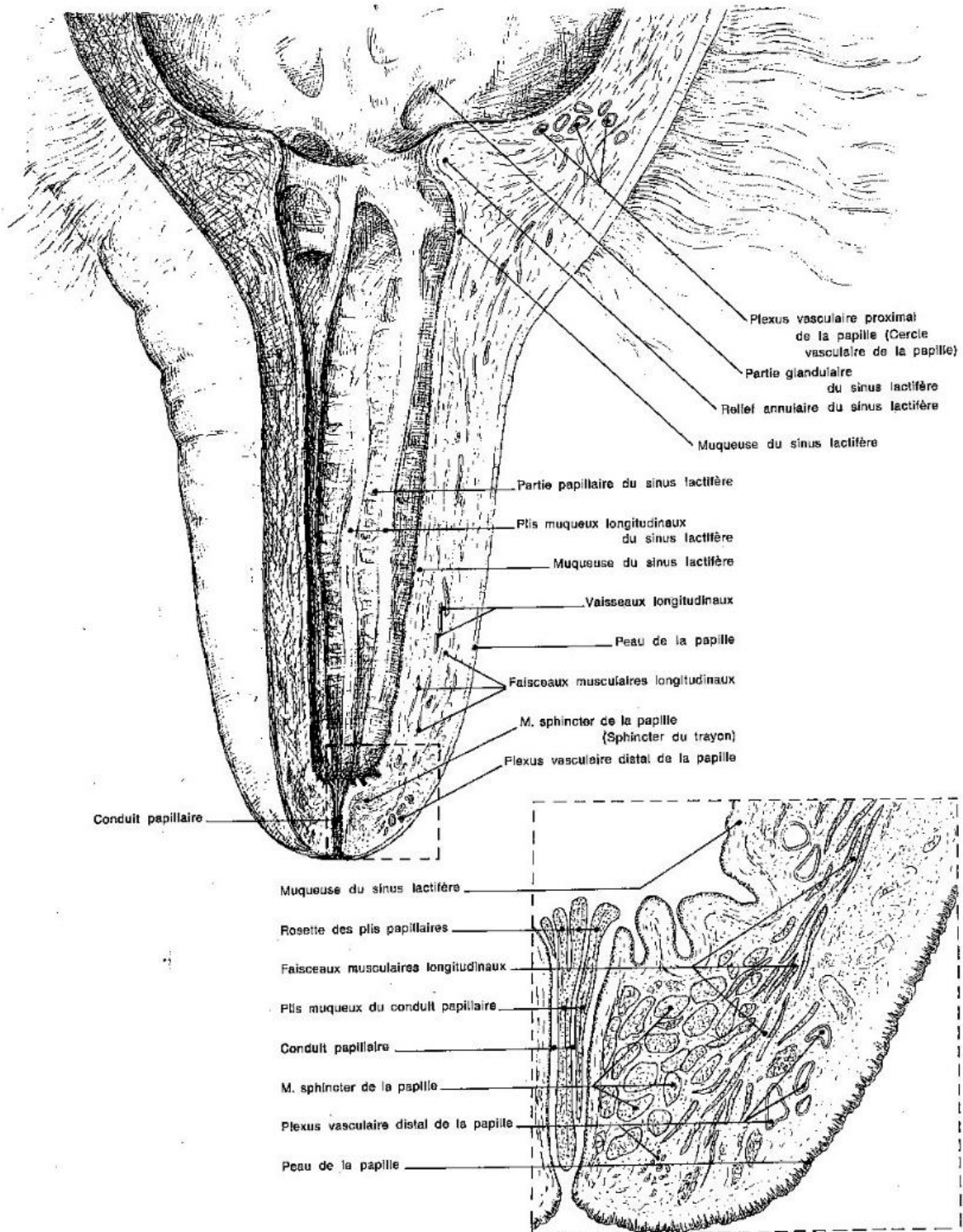


Figure 2 : Conformation et structure du trayon chez la vache (Barone, Anatomie comparée des animaux domestiques, 1968).

### 3. Les défenses de la mamelle

La mamelle est un organe dont la défense est rendue particulièrement difficile par la présence de lait : il s'agit en effet d'un milieu nutritif pour les bactéries qui favorise leur croissance, et qui présente le désavantage de diluer les cellules et molécules de l'immunité. La vidange de la mamelle, en général deux fois par jour lors de la traite, provoque l'évacuation d'une grande partie des anticorps et peptides anti-microbiens présents dans le lait ce qui en fait des défenses inefficaces en période de lactation. De plus, l'absence de couche de mucus protectrice sur l'épithélium mammaire favorise l'exposition aux agents pathogènes (Rainard, Gilbert, Germon 2022; Rainard 2019).

On distingue les défenses dites basses, qui sont celles du trayon, des défenses hautes de la mamelle (Figure 3).

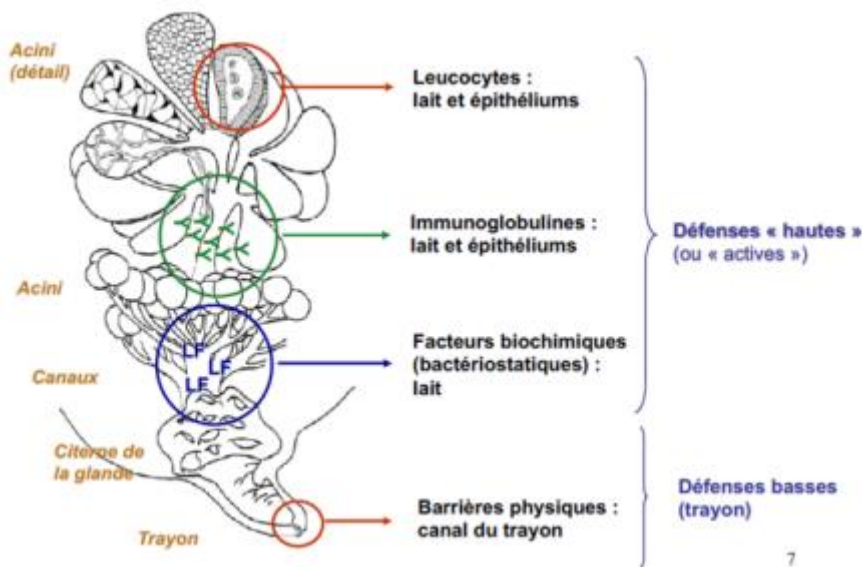


Figure 3 : Systèmes de défense immunitaire de la mamelle de la vache et leur localisation (Bergonier, Les mammites de la vache laitière : épidémiologie analytique et synthétique, 2022).

Lorsque le trayon est sain, il présente des défenses conformationnelles efficaces contre les infections bactériennes. La forme conique du canal et la contraction du sphincter permettent l'éviction du lait résiduel qui est un bon milieu de pousse pour les bactéries ; de plus, le sphincter fermé est étanche et empêche la pénétration des bactéries. Cependant, ce sphincter met au moins 30 minutes à se refermer après une traite ou une tétée. De plus, les trayons de vaches laitières sont particulièrement sujets aux lésions cutanées. En effet, l'action mécanique d'une traite excessive ainsi que les produits d'hygiène de prétraite peuvent fragiliser cette peau déjà sensible.

La rosette de Fürstenberg est partiellement composée de tissu lymphoïde qui participe à la défense de la mamelle. Il existe en outre au niveau du trayon une flore bactérienne résidente qui a un rôle défensif par compétition vis-à-vis des bactéries qui pourraient infecter la mamelle.

L'épithélium stratifié du canal du trayon produit de la kératine qui emprisonne les bactéries et permet leur élimination. En effet, lors de l'éjection des premiers jets de lait une partie de la

couche de kératine est évacuée et permet donc mécaniquement l'élimination des germes. On attribue à la kératine des propriétés bactériostatiques. Une accumulation de kératine forme également un bouchon durant le tarissement de manière non systématique : environ 20% des vaches ont le trayon toujours non obturé de façon naturelle après 50 jours de période sèche (Bergonier 2022b).

Ce qui est appelé défenses hautes de la mamelle consiste en une réponse immunitaire cellulaire et biochimique une fois que l'agent pathogène a réussi à s'introduire par le trayon.

L'immunité cellulaire a un rôle majeur. L'inflammation, qui permet l'afflux de cellules du sang vers le site infecté, se caractérise par des signes locaux : rougeur, chaleur, œdème, douleur. Les cellules présentes dans le lait d'une mamelle saine sont principalement des cellules épithéliales, des macrophages et des lymphocytes ; cependant, en cas de mammite, les polynucléaires neutrophiles prédominent (Risco, Melendez 2011). On constate également la présence de macrophages qui phagocytent les bactéries ; les cellules épithéliales sont capables de phagocyter dans une moindre mesure (Rainard, Gilbert, Germon 2022).

Les cellules épithéliales mammaires des acini et des conduits lactifères hébergent en effet des macrophages ductaux, cellules résidentes de l'immunité apparentées à des cellules dendritiques. Ce complexe épithélial mammaire (cellules épithéliales et macrophages ductaux) est capable de reconnaître un agent pathogène et de déclencher une réaction immunitaire innée : production de cytokines pro-inflammatoires, chémokines (dont CCL20 qui cible les récepteurs CCR6 des lymphocytes), sécrétion de lactoferrine et peptides anti-microbiens, perméabilisation des jonctions serrées, diminution de la production laitière entre autres. Cette réaction immunitaire dépend de l'agent pathogène rencontré et s'adapte de manière paracrine et autocrine. Elle est également modulée par les cytokines produites en réponse par les cellules lymphoïdes : IFN- $\gamma$ , IL-17A ou IL-17F, IL-6, et TNF- $\alpha$  notamment (Rainard, Gilbert, Germon 2022).

D'après les connaissances actuelles, les cellules épithéliales mammaires seraient probablement impliquées dans le mécanisme de mémoire immunitaire. Elles seraient capables grâce à un échantillonnage de la lumière de présenter des antigènes aux lymphocytes mémoires résidents, déclenchant une réaction immunitaire spécifique vis-à-vis de l'agent pathogène déjà rencontré. Les cellules épithéliales, sentinelles immunitaires de la mamelle, et les macrophages ductaux sont des cellules effectrices de l'immunité adaptative aux rôles pressentis mais encore largement méconnus dont les interactions avec les leucocytes résidents et recrutés restent encore à investiguer (Rainard, Gilbert, Germon 2022).

Les lymphocytes T cytotoxiques recrutés induisent l'apoptose des cellules lésées ou infectées tandis que les lymphocytes T auxiliaires et les lymphocytes B permettent la production d'anticorps, mais les leucocytes non phagocytaires sont en concentration minimale dans le lait. On retrouve des immunoglobulines en quantité importante dans le lait, notamment les IgG1 dont la concentration est près de 10 fois supérieure aux autres. Elles sont cependant régulièrement éliminées par la traite chez les vaches en lactation, ce qui ne leur confère un rôle que très secondaire dans les défenses immunitaires de la mamelle (Bergonier 2022a).

Enfin, le complément a une activité bactéricide sur certaines souches. Le système lactoperoxydase, non spécifique du lait, est antioxydant et participe donc aux défenses immunitaires de la mamelle. Au tarissement, la lactoferrine diminue la disponibilité du fer, élément nécessaire à la multiplication de certaines bactéries comme *Escherichia coli*, et a donc un effet bactériostatique en inhibant leur croissance. Elle a cependant un effet moindre sur les staphylocoques et nul sur les streptocoques (Blowey, Edmondson 2010).

#### 4. Pathogénie

La grande majorité des germes à l'origine de mammites sont naturellement présents dans l'environnement, le tractus urinaire et sur la peau des vaches. Exception faite des quelques bactéries pouvant pénétrer par voie hématogène (mycoplasmes, salmonelles, *Listeria monocytogenes* et *Mycobacterium paratuberculosis*) (Rémy 2010), l'infection de la mamelle se fait principalement par voie galactogène (remontée par le canal du trayon). La contamination est accrue lorsque le sphincter n'est pas fermé, c'est-à-dire au cours de et après la traite, et au tarissement. Les facteurs favorisant l'infection comme les blessures du trayon, l'hygiène de traite et éventuellement les injections intra-mammaires mal réalisées sont abordées plus précisément dans la suite de ce travail (Rémy 2010).

Une fois les premières défenses du trayon passées, l'agent pathogène colonise les canaux galactophores. Certaines bactéries peuvent provoquer des infections intracellulaires : elles peuvent adhérer à l'épithélium, pénétrer dans les cellules et s'y multiplier. Ce mécanisme leur permet d'échapper à de nombreuses défenses du système immunitaire et entraîne souvent une chronicité de l'infection. Dans certains cas, l'inflammation causée par la multiplication bactérienne dans le parenchyme mammaire entraîne une hyperplasie du tissu inter-alvéolaire, formant des nodules de consistance ferme pouvant être détectés à la palpation de la mamelle. A terme, des abcès sont formés à la faveur d'une fibrose qui place les bactéries hors de portée du système immunitaire (Rémy 2010; Blowey, Edmondson 2010). Cependant, l'évolution de l'infection dépend toujours du type de bactérie et du statut immunitaire de la vache.

Si la réponse immunitaire parvient à éliminer l'agent pathogène, alors l'infection est jugulée et la mammite guérit. Si la réponse immunitaire est inadaptée, elle peut être dépassée, dans ce cas l'infection progresse et donne lieu à des mammites cliniques ou subcliniques chroniques, ou efficace mais incomplète et dans ce cas l'infection persiste à bas bruit, sans signes cliniques, mais peut sembler se réactiver de manière intermittente car il n'y a pas de guérison bactériologique (Rémy 2010; Blowey, Edmondson 2010).

##### ii. Etiologie : principaux micro-organismes à l'origine de mammites (Watts 1988; Kalińska, Gołębiewski, Wójcik 2017)

Les agents pathogènes rencontrés le plus fréquemment lors de mammites incluent des bactéries (*Staphylococcus aureus*, autres staphylocoques, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp.), des champignons (*Candida* spp., *Cryptococcus* spp.) et des algues (*Prototheca* spp.).

##### 1. *Streptococcus uberis*

Cette bactérie Gram positive est un agent pathogène majeur de mammites. En France, elle serait impliquée dans 20% des mammites (Poutrel 2019). La deuxième partie de cette étude bibliographique lui est dédiée.

## 2. Entérobactéries coliformes

Il s'agit de bactéries Gram négatives commensales des intestins et se retrouvant dans les bouses. Opportunistes, les agents pathogènes responsables de mammites en élevage sont principalement représentés par *Escherichia coli* et *Klebsiella* spp.

La contamination se fait préférentiellement après la traite, lorsque le sphincter du canal du trayon n'est pas encore correctement refermé. Ce type de transmission suit un modèle « environnemental » car le réservoir des entérobactéries est en grande majorité la litière souillée par les bouses.

Ces entérobactéries sont fréquemment responsables de mammites cliniques (œdème mammaire, inflammation importante, hypogalactie, lait très modifié) très semblables entre elles, dont la sévérité peut aller jusqu'à la mort de la vache. Les mammites surviennent préférentiellement dans les premières semaines post-partum (41% avant le pic de lactation (Heikkilä et al. 2018)) à la faveur de la baisse d'immunité entourant le vêlage. La prévalence d'*E. coli* lors de mammites cliniques sévères en France est de plus de 50% (Igoho-Moradel 2023a). La libération de toxines, notamment l'endotoxine (lipide A du lipopolysaccharide) d'*Escherichia coli* peut être à l'origine d'un choc endo-toxémique et résulter en une défaillance multi-organique fatale (léthargie, anorexie, hyperthermie, décubitus). De plus, ce type de mammite est à l'origine dans 30 à 40% des cas d'une bactériémie qui provoque une forte inflammation, ce qui conduit à une augmentation spectaculaire des cellules somatiques dans le lait, de l'ordre d'un facteur 17 en moyenne contre un facteur 5 à 9 lors de mammites causées par d'autres agents pathogènes (Djabri et al. 2002). Ces mammites sont aiguës et fréquemment auto-résolutives si l'état général de la vache reste bon, car de nombreuses souches d'*E. coli* sont sensibles à certaines défenses de la mamelle (phagocytose par les polynucléaires neutrophiles, action du complément, lactoferrine).

Il est à noter que dans de plus rares cas, certaines souches d'*E. coli* suivent un modèle de transmission « contagieux » avec des infections persistantes favorisées par une capacité accrue d'échappement au système immunitaire (Rémy 2010).

Les mammites à *Klebsiella* spp. sont moins fréquentes mais encore plus sévères, avec des chances de guérison spontanées de 35% contre 70% pour les mammites à *E. coli*, et une baisse de production laitière accrue (Zadoks et al. 2001).

## 3. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* est une bactérie type coque Gram positive, ubiquiste, coagulase-positif, aéro-anaérobie facultative. C'est un staphylocoque commensal de la peau et des muqueuses. Opportuniste, il est très fréquemment impliqué dans des mammites subcliniques ou cliniques de grade 1 voire 2 avec des symptômes frustes : simple modification du lait le plus souvent (grumeaux). Il est parfois remarqué des signes non spécifiques d'inflammation de la mamelle, ou une hypogalactie légère. La contamination se fait à la faveur de lésions du trayon, avec un modèle de transmission dit de type « contagieux ».

Les mammites à *S. aureus* sont ainsi relativement bénignes en termes de gravité clinique mais ont tendance à la chronicité. Cette bactérie est en effet dotée d'un arsenal important pour déjouer les défenses immunitaires de la mamelle : sa capacité à former des micro-abcès et à synthétiser

des biofilms, la présence de facteurs de virulence comme les adhésines qui permettent de s'accrocher aux cellules épithéliales et les leucocidines qui détruisent la membrane des leucocytes, ou encore sa capacité à envahir certains types cellulaires (macrophages, polynucléaires neutrophiles, cellules épithéliales) et à s'y multiplier à l'abri des antibiotiques et des mécanismes de défense de la mamelle (Eicher, Sutter-Lutz, Gerber 2002) en sont quelques-uns. C'est donc une bactérie particulièrement résistante aux traitements qui persiste dans la mamelle et provoque des mammites longues voire impossibles à guérir.

L'excrétion de *S. aureus* dans le lait est intermittente à tel point que seul un tiers des quartiers infectés par la bactérie seraient positifs par bactériologie (Blowey, Edmondson 2010).

C'est un agent pathogène majeur en élevage laitier du point de vue de sa fréquence et de sa contagiosité. De plus, l'infection de la mamelle par *S. aureus* induit une augmentation des comptages cellulaires dont le retentissement économique est important. Autour de 20% des mammites sont dues à *S. aureus* (Vakkamäki et al. 2017; Koivula et al. 2007), avec des variations selon la localisation de l'étude et le type de mammite considéré. Il est estimé que 10 à 20% des mammites cliniques sont dues à *Staphylococcus aureus* (Gao et al. 2017; Svennesen et al. 2023; Jamali, Radmehr, Ismail 2014; de Haas et al. 2004), proportion qui peut monter à près de 40% (Suleiman, Karimuribo, Mdegela 2018; Birhanu et al. 2017) et jusqu'à plus de 70% si l'on s'intéresse uniquement aux mammites subcliniques (Ren et al. 2020). En 2018 en Finlande, Heikkilä et al. constatent que plus de 80% des mammites à staphylocoques ont lieu soit dans le premier tiers soit dans le dernier tiers de lactation et provoquent principalement des mammites subcliniques (Heikkilä et al. 2018).

Il est à noter que dans le cas des mammites gangréneuses, beaucoup plus rares mais graves sur le plan clinique, *Staphylococcus aureus* fait partie des bactéries fréquemment identifiées. Ces mammites à l'expression clinique particulière surviennent à la faveur d'un défaut d'immunité de la mamelle et non d'une souche particulièrement virulente.

#### 4. Staphylocoques coagulase-négatifs

Cette appellation regroupe une trentaine de bactéries à Gram positif, de type coques, appartenant au genre *Staphylococcus*, aéro-anaérobies facultatives et présentant un résultat négatif au test coagulase. Il s'agit de bactéries opportunistes et commensales de la peau des trayons et du pis dont *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus chromogenes* entre autres. A l'instar de *S. aureus*, elles sont principalement responsables de mammites subcliniques : une augmentation des comptages cellulaires est induite sans pour autant provoquer d'inflammation visible de la mamelle. Cependant, l'importance économique des SCN est loin d'être négligeable car ils sont relativement fréquents (14% des agents pathogènes identifiés en France entre 2005 et 2007 (Bidaud, Houffschmitt, Viguerie 2007)) et responsables d'une baisse de la production laitière.

#### 5. Streptocoques autres que *S. uberis*

Le genre *Streptococcus* est très hétérogène bactériologiquement et en termes de réservoirs, de modalités de transmission et de profils d'antibiorésistance (Haenni, Lupo, Madec 2018). Les streptocoques autres que *S. uberis* sont des bactéries à Gram positif à l'origine de 10 à 20% des

mammites cliniques. Les bactéries le plus fréquemment représentées sont *Streptococcus dysgalactiae* et *Streptococcus agalactiae*.

*S. agalactiae* est une bactérie contagieuse, présente sur la peau du trayon, dont la sensibilité aux antibiotiques est très bonne. Elle est encore identifiée comme agent de mammites dans certains endroits notamment en Afrique et en Asie (Gao et al. 2017; Mpatswenumugabo et al. 2017), mais nettement moins présente en Europe et en Amérique du Nord (Kabelitz et al. 2021).

*S. dysgalactiae* est un germe dont le réservoir est mixte, avec un portage sur la peau de la mamelle ainsi qu'une présence environnementale. Il est identifié dans environ 10% des mammites cliniques (Gao et al. 2017; Koivula et al. 2007; Kabelitz et al. 2021). Heikkilä et al. ont constaté que les mammites à *S. dysgalactiae* survenaient pour la moitié d'entre elles avant le pic de lactation, et que 22% étaient cliniques (Heikkilä et al. 2018).

Ces deux bactéries sont responsables de mammites majoritairement peu sévères, associées à une baisse de la production laitière et une hausse des comptages cellulaires.

## 6. *Mycoplasma bovis*

Les mycoplasmes sont des bactéries sans paroi qui ne poussent pas sur les milieux gélosés classiques. Parmi eux, *Mycoplasma bovis* peut provoquer des mammites dont la culture bactériologique sur lait paraît de prime abord négative. Ces mammites ne répondent pas aux traitements antibiotiques de première intention : en effet, les mycoplasmes ne sont pas sensibles aux bêta-lactamines et présentent des résistances acquises à certains aminosides, tétracyclines et macrolides (Nicholas, Ayling 2003).

Ces mammites sont cliniques et parfois sévères, durent dans le temps, affectent souvent plusieurs quartiers et peuvent s'accompagner de signes généraux évocateurs tels que des arthrites et des pneumonies (Nicholas, Ayling 2003).

Au sein d'un troupeau on remarque une forte contagiosité même si la prévalence de ce germe en France est faible. La contamination d'un troupeau sain se fait par l'introduction d'animaux porteurs asymptomatiques.

La prévalence des mammites à mycoplasmes est considérée comme quasi nulle en France et comme faible en Europe (Theron et al. 2010).

## 7. Entérobactéries non coliformes (Liang et al. 2023; Wilson, Gonzalez, Das 1997; Ohnishi et al. 2011)

Ce sont des bactéries à Gram négatif environnementales qui ne fermentent pas le lactose. Le genre *Serratia* est le plus fréquent en élevage, il est très difficile à éliminer car il fait partie des germes fortement antibiorésistants. Les vaches infectées continuent à présenter pendant des mois des comptages cellulaires extrêmement hauts avec des antibiothérapies sans succès. Leur prévalence est faible, autour de 1%.



## 8. *Trueperella pyogenes*

Cette bactérie à Gram positif est à l'origine de mammites cliniques sévères bien que rares, dont la létalité peut atteindre 50%. Comme son nom l'indique, il s'agit d'une bactérie pyogène qui a pour réservoir d'autres sites d'infections (lésions des trayons, abcès, infections génitales). Les mammites à *Trueperella pyogenes* sont caractérisées par l'écoulement de pus abondant et nauséabond (Theron et al. 2010) ; il est conseillé de tarir le quartier car les chances de guérison sont de moins d'un quart (Waage et al. 2000).

## 9. Entérocoques

Ce sont des bactéries à Gram positif aéro-anaérobies, le plus souvent *Enterococcus faecalis* ou *Enterococcus faecium*. Elles sont commensales du tractus intestinal et se retrouvent dans l'environnement. Elles provoquent assez rarement des mammites, qui sont cliniques ou subcliniques (Salat et al. 2023; Vakkamäki et al. 2017). Ces bactéries présentent de nombreuses résistances aux antibiotiques et sont capables de former des biofilms, ce qui rend leur traitement difficile (Kim et al. 2022).

## 10. *Pseudomonas* spp.

*Pseudomonas aeruginosa* est un bacille à Gram négatif à l'origine de mammites cliniques allant de la mammite sévère aigue (le plus fréquemment) à des mammites chroniques et récurrentes. La contamination est rare, mais elle peut être très importante au sein d'un troupeau car l'origine de l'infection est l'eau contaminée utilisée pour nettoyer le matériel de traite ou laver les trayons. Les mammites à *Pseudomonas* spp. sont difficiles à traiter car cette bactérie forme des biofilms qui la protègent de l'action du système immunitaire et des antibiotiques (Rémy 2010; Blowey, Edmondson 2010).

## 11. Champignons et levures, algues

Ces agents pathogènes de mammites sont considérés comme mineurs en France. *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* et *Prototheca* spp. ont été identifiés dans moins de 2% des échantillons étudiés par Bidaud et al. en 2010. Ils sont ubiquitaires donc présents naturellement dans l'environnement et en particulier dans la litière lorsque la paille est moisie.

Levures et champignons entraînent des mammites cliniques de sévérité moyenne avec des quartiers durs, chauds, œdématiés et la présence de caillots de lait dans des premiers jets. Ces mammites guérissent souvent spontanément en quelques semaines (Crawshaw, MacDonald, Duncan 2005).

Les algues (*Prototheca zopfii*) provoquent des mammites subcliniques ou cliniques aiguës avec une forte augmentation des taux cellulaires et une importante baisse de la production laitière.

Ces pathogènes peuvent être sélectionnés par une antibiothérapie utilisée à mauvais escient, qui paraîtra empirer les symptômes (Bergonier 2023).

### iii. Facteurs de risque

#### 1. Facteurs prédisposants

Les facteurs dits prédisposants intéressent la vache : sa génétique, son rang et stade de lactation, son état immunitaire et la présence d'éventuelles maladies intercurrentes (Cheng, Han 2020; Bergonier 2022b).

La prévalence des mammites augmente avec le nombre de lactations (Gantner, Jožef, Vera, et al. 2023; Cheng, Han 2020). Plus le rang de lactation est élevé, plus le comptage cellulaire est élevé mais les études sont discordantes sur les causes menant à cette observation (Bergonier 2022b). Cependant, on remarque que les primipares sont plus fréquemment concernées par des mammites cliniques sévères car leur système immunitaire est plus naïf que celui des vaches âgées, dont l'immunité adaptative est meilleure. Les mammites subcliniques sont elles aussi plus souvent le fait de primipares ; les vaches multipares quant à elles présentent plus fréquemment des mammites cliniques non sévères (Samson, Schmitt, Gaudout, Cousin, et al. 2016).

Concernant le stade de lactation, il y a deux périodes critiques sur toute la durée de la lactation. Ces périodes correspondent aux périodes de transition du péripartum (de quatre à cinq jours avant le vêlage, à 10 jours après vêlage) et du début d'involution de la mamelle lors du tarissement (Cheng, Han 2020). En début de lactation, lors du péripartum, les défenses immunitaires sont diminuées (la phagocytose diminue, les défenses de la mamelle sont peu efficaces) ce qui entraîne un nombre accru de mammites cliniques notamment sévères. On constate que 30% des mammites cliniques des primipares ont lieu sur les 2 premières semaines de lactation, sur les 4 premières semaines pour les multipares. Moins grave sur le plan clinique, entre le jour de la dernière traite et 15 à 20 jours plus tard, le risque de mammites est multiplié par 3 par rapport à la fin de la lactation. En effet, puisqu'on ne traite plus, il n'y a plus de vidange de la mamelle qui aide à éliminer les germes. De plus, on peut faire entrer des agents pathogènes en administrant une seringue intra-mammaire dans des conditions d'hygiène insuffisantes, notamment s'il s'agit d'un obturateur interne sans antibiotique (Bergonier 2022c).

Plusieurs paramètres d'ordre génétique influencent la sensibilité aux infections mammaires. Les races rustiques avec des productions laitières modérées sont plus résistantes que les Prim'Holstein (Cheng, Han 2020). De plus, une production laitière haute prédispose les vaches aux mammites (Oltenacu, Broom 2010; Rupp, Boichard 1999). La conformation de la mamelle est également un facteur clé puisque différentes caractéristiques telles que la taille des trayons, leur distance avec le sol et la forme de la mamelle (mamelles « pendulaires » à risque) influencent également la survenue d'infections mammaires (Cheng, Han 2020).

Une étude de Rupp et Boichard sur près de 30 000 vaches Prim'Holstein françaises en 1999 a calculé la part de la génétique dans la transmission des caractères liés au niveau de production laitière, aux comptages cellulaires individuels (CCSI) et aux mammites cliniques pour une

première lactation. L'héritabilité du niveau de production laitière est estimée à 0,24, c'est-à-dire que 24% de ce caractère appartient au fond génétique de l'animal ; 0,17 (17%) pour le CCSI en lactation (moyenne arithmétique durant la lactation) et 0,024 pour les mammites cliniques soit seulement 2,4%. Les paramètres liés à la conformation de la mamelle ont une héritabilité non négligeable, de 0,17 (17%) pour la distance entre deux trayons ipsilatéraux à 0,30 (30%) pour la longueur des trayons.

Des données plus récentes donnent une héritabilité des critères de conformation de la mamelle entre 0,25 et 0,35. La distance plancher-jarret en fait partie et a son importance : une distance plancher-jarret élevée multiplie par 1,5 à 2 le risque de mammites subcliniques car elle signe une plus grosse production laitière. La localisation du quartier est à prendre en compte : il y a une fréquence plus élevée de mammites sur les quartiers arrières (Bergonier 2022b).

Il est en effet prouvé qu'une corrélation positive très forte (0,72) existe entre les CCSI et la survenue de mammites cliniques. Une corrélation positive existe également entre la survenue de mammites cliniques et la production laitière, estimée à 0,45, ce qui implique qu'une augmentation de production laitière augmente les chances de mammites cliniques (Rupp, Boichard 1999).

Un autre trouble concomitant, comme une endométrite ou une fièvre de lait, est un facteur prédisposant aux mammites ; le déficit énergétique en début de lactation est également un facteur causal avéré de mammites (Bergonier 2022d).

## 2. Facteurs favorisants

L'impact du milieu est primordial : la machine à traire et la technique de traite (Deng et al. 2019), le logement, les traitements mis en place, jusqu'à la conduite d'élevage au sens large (dont les réformes) ont un impact sur la survenue de mammites (Cheng, Han 2020; Bergonier 2022b).

Les infections mammaires peuvent être la conséquence de problèmes traumatiques causés par la traite comme l'hyperkératose, les lésions des trayons, l'incontinence laiteuse (trayons perdant du lait), les thélites infectieuses ou l'œdème mammaire.

### a. Machine à traire

Trois facteurs de risque principaux sont à considérer au niveau de la machine à traire. Le premier est lorsque le contrôle annuel est non conforme ou non réalisé (contrôle Optitraite en France). Le risque de mammites subcliniques est multiplié par 2 si il n'y pas de contrôle régulier. Le deuxième est la fréquence de renouvellement des manchons : il faut renouveler tous les 2500 traites les manchons sans quoi leur usure est excessive. Enfin, le diamètre intérieur du lactoduc peut être insuffisant, dans ce cas l'écoulement du lait est turbulent ce qui conduit à une augmentation de la lipolyse et la formation de bouchons de lait. Ceux-ci, mis sous pression, peuvent venir frapper les sphincters des trayons et ainsi les dégrader (Bergonier 2022b).

#### b. Technique de traite (Bergonier 2022b)

Concernant la technique de traite, une observation rigoureuse des premiers jets permet un dépistage précoce des mammites cliniques. Les risques de mammites sont multipliés par 1,2 à 2,2 dans le cas, par exemple, où l'extraction des premiers jets se fait sur le quai et non dans un bol de traite à fond noir. Ce dernier permet une meilleure visualisation des premiers jets et permet de moins contaminer le quai, les pieds, le matériel de traite. Le taux de mammites subcliniques est également plus élevé dans les élevages où l'extraction et l'observation ne sont pas réalisées systématiquement.

Les entrées d'air occasionnées par un glissement des manchons ou manuellement lors de l'égouttage favorisent les phénomènes d'impact, donc la remontée de gouttelettes de lait d'un trayon à l'autre. Cela peut engendrer la contamination d'un quartier qui était sain par le quartier adjacent infecté. De plus, un temps de traite long (supérieur à une heure pour 45 vaches laitières) accroît le risque de maintien du niveau de vide trop longtemps alors qu'il n'y a plus d'éjection de lait ; il s'agit du phénomène de surtraite.

#### c. Hygiène de traite

Il y a trois facteurs de risque principaux. Le premier est lorsqu'il n'y a pas d'antisepsie des trayons, notamment de post-trempage. Le deuxième est lorsque le nettoyage et la désinfection de la machine ne sont pas réalisés bi-quotidiennement. Enfin, le nettoyage et la désinfection incorrects des lavettes sont un facteur de risque supplémentaire de mammites (Bergonier 2022b).

#### d. Logement (Bergonier 2022d)

La conduite sur aire paillée est plus à risque que les logettes : le Risque Relatif est estimé à 1,15 pour les mammites cliniques. Une surface de couchage insuffisante (moins de 6m<sup>2</sup>/vache en aire paillée ou un rapport nombre de logettes/nombre de vaches inférieur à 110%) est également un facteur de risque, tout comme une fréquence de paillage insuffisante (moins de deux fois par jour). La présence de souillures sur les mamelles avant la traite a un Risque Relatif estimé à 1,4 pour les mammites cliniques, et de 1,5 pour les mammites subcliniques. De manière générale, une propreté insuffisante des vaches est un facteur de risque avéré de mammites (Deng et al. 2019; Sant'anna, Paranhos da Costa 2011).

Une mauvaise ventilation, des courants d'air fragilisant le système immunitaire des vaches, des conditions d'hygiène insuffisantes dans le box de vêlage et dans la stabulation des vaches tarées (Risque Relatif estimé à 1,9 pour les mammites cliniques concernant ce dernier paramètre) sont également des facteurs favorisant l'apparition de mammites.

#### e. Conduite d'élevage (Bergonier 2022d)

La distribution alimentaire après la traite est un bon moyen d'empêcher que les vaches n'aillent se coucher immédiatement alors que les sphincters des trayons sont encore ouverts, ce qui favorise une contamination par des germes environnementaux. L'absence de distribution alimentaire en post-traite immédiat est donc un facteur de risque pour les mammites.

De plus, pour une lactation de plus de 355 jours ou une période sèche de plus de 2 mois, on a une augmentation du risque de mammites. On note également que l'introduction des génisses avec les vaches tarées ou en salle de traite avant le vêlage est problématique car elles n'ont pas le même statut immunitaire que les adultes. En outre, l'absence totale de pâturage est un facteur favorisant les mammites.

#### f. Alimentation

Les états carenciels en oligo-éléments et vitamines sont des facteurs de risque avérés de mammites. Citons notamment les carences en sélénium et vitamine E qui sont des antioxydants participant à un bon système immunitaire, ou un défaut en vitamine A et en zinc qui participent à la protection des épithéliums. Un déficit énergétique de la ration amoindrit également l'efficacité des défenses immunitaires de la vache et constitue un facteur de risque alimentaire notable de mammites (Bergonier 2022d; Khan et al. 2022; Xiao et al. 2021).

#### B. Epidémiologie : contagiosité, fréquence et répartition, du niveau troupeau au niveau mondial

En France, en se basant sur une corrélation entre le pourcentage de vaches infectées et les comptages cellulaires du tank qui est de 10% de vaches infectées pour une augmentation des comptages cellulaires de 100 000 cellules par mL, il peut être estimé que 30 à 40% des vaches d'un troupeau ont une mammite à un instant T. En effet, les comptages cellulaires moyens en France sont autour de 300 000 cellules/mL avec une grande variabilité inter-régionale. Il s'agit de comptages cellulaires sur lait de tank, certaines vaches déjà connues comme infectées ou traitées en sont écartées, cette valeur est donc une estimation basse : on s'accorde donc à considérer que minimum 30% des vaches sont en mammite clinique ou subclinique à un instant donné (Bergonier 2023).

Si l'on étudie le pourcentage de vaches dont les CCSI n'ont jamais dépassé 300 000 cellules/mL, on arrive seulement à 50,8% d'entre elles en 2020. C'est-à-dire que 49,2% des vaches ont connu au moins un épisode de mammite, clinique ou non, aigu ou non, au cours de leur lactation (Bergonier 2023). En Ethiopie, Birhanu et al. constatent que plus de 40% des vaches présentent une mammite subclinique à un instant T (Birhanu et al. 2017), près de deux fois plus que les 20,5% constatés dans une étude mexicaine (Olivares-Pérez et al. 2015). En 2023 en Croatie, Gantner et al. ont évalué la prévalence de mammites dans plusieurs troupeaux et établi une prévalence variant de 10,5% à 20,8% ; il a été remarqué que les fermes de petite taille avaient une plus forte prévalence de mammites par opposition aux plus grands troupeaux (Gantner, Jožef, Gantner, et al. 2023).

Quant aux mammites cliniques, un pic de détection est rapporté par les éleveurs à l'automne et en hiver, ce qui concorde avec les vêlages dans de nombreuses régions (les mammites se déclarent souvent en début de lactation), une concentration des animaux dans le même espace et éventuellement un logement sur aire paillée favorable aux contaminations. On observe inversement un creux en été, là encore probablement lié à la conduite d'élevage car de nombreuses vaches sont à l'extérieur et donc moins observées.

### i. Modèles épidémiologiques

Un grand nombre d'agents pathogènes responsables de mammites peuvent être catégorisés selon leur profil épidémiologique de transmission au sein d'un élevage. Deux principaux modèles se démarquent, appelés modèle environnemental et modèle contagieux. Notons cependant que certains germes et souches, y compris majeurs comme *S. uberis*, ont un profil épidémiologique mixte mélangeant des aspects des deux modèles.

De manière générale, le contact avec l'agent pathogène se fait soit par le matériel de traite contaminé (simple apposition ou phénomène d'impact), soit par le couchage sur une litière contaminée, éventuellement par la tétée (rare en élevage laitier car les veaux sont séparés rapidement de leur mère), parfois par des vecteurs tels que la mouche *Hydrotea irritans* à la belle saison.

#### 1. Modèle environnemental

Le modèle environnemental est caractérisé le plus souvent par la survenue de mammites de courte durée, d'évolution aiguë à suraiguë avec des signes cliniques plus sévères et une atteinte de l'état général (Bosquet 2013). On tient pour responsables de ces mammites des germes présents dans l'environnement, notamment dans la litière, ce qui confère au modèle son nom. Les vaches sont contaminées entre les traites, notamment à la faveur de l'ouverture du sphincter du trayon après la traite. Les mammites à entérobactéries coliformes telles qu'*E. coli*, à entérocoques et certaines souches de *S. uberis* en font généralement partie.

On attribue à ce modèle des facteurs de risque spécifiques notamment des défauts d'hygiène du logement (surface, ventilation, pentes), des aires de couchage contaminées par les matières fécales et humides, un défaut de lavage et d'essuyage des trayons avant la traite, une période sèche longue, un traitement préventif au tarissement insuffisant et un défaut d'hygiène lors de l'application de traitements intra-mammaires (Bosquet 2013).

#### 2. Modèle contagieux

Dans le modèle contagieux, les mammites sont bien plus fréquemment subcliniques et chroniques (Rémy 2010; Bosquet 2013). Les agents pathogènes responsables de ces mammites sont principalement les staphylocoques, *Streptococcus dysgalactiae* et *Streptococcus agalactiae*. Ces bactéries sont portées par la peau des trayons, notamment en cas de lésions, et dans le lait des quartiers contaminés ; la transmission se fait lors de la traite, d'un quartier à un autre en cas de phénomène d'impact et via la contamination du matériel qui sert à plusieurs

vaches. En effet, lors de la traite, une vache à mammites staphylococcique peut contaminer le trayon des six à huit vaches suivantes (Blowey, Edmondson 2010).

Les facteurs de risque spécifiques attribués à ce modèle sont une traite favorisant la contagion (mains, lavettes, manchons mal désinfectés), un défaut de trempage des trayons après la traite, des lésions notamment de type crevasses sur les trayons, un défaut de dépistage des mammites cliniques (observation des premiers jets trop peu fréquente ou mal réalisée), des traitements curatifs (lactation, tarissement) mal conduits et une insuffisance de réformes des vaches porteuses non guéries (Bosquet 2013).

## ii. Fréquence des différents agents pathogènes

Au niveau mondial, la majorité des mammites sont causées par des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus* spp. et *Streptococcus* spp.) ainsi que des bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*) (Bain 2023). Voici un tour d'horizon non exhaustif d'études récentes menées dans des pays de différents continents et les résultats en termes de prévalence des germes à l'origine de mammites (Tableau 2).

En Ouganda, Kateete et al. ont analysé en 2013 une centaine d'échantillons de lait provenant de quartiers infectés qui ont révélé 21% de staphylocoques, 16% d'entérocoques et 13% de streptocoques ainsi que 12% d'*Escherichia coli* (Kateete et al. 2013).

En Côte d'Ivoire, Kouaho et al. rapportent dans leur étude de 2023 sur des mammites subcliniques un total de 38% d'entérobactéries coliformes (*Escherichia coli* et *Klebsiella* spp.) ainsi que 18% de *Staphylococcus aureus* (Kouaho et al. 2023).

Au nord-ouest de l'Algérie, une étude sur des échantillons de lait issu de mammites subcliniques a révélé 43,8% de SCN, 8,8% d'*Enterobacter cloacae*, 7% d'*Enterococcus faecium*, 5,3% de *Klebsiella pneumoniae* et 5,3% d'*Enterococcus faecalis* (Meskini et al. 2021).

Dans une étude menée au Rwanda et parue en 2017, Mpatswenumugabo et al. ont identifié sur du lait issu de mammites subcliniques 51,5% de SCN, 20,6% de *Staphylococcus aureus*, 10,3% de streptocoques, *Streptococcus agalactiae* pour 5,8% des échantillons et *Escherichia coli* pour 1,5% des échantillons (Mpatswenumugabo et al. 2017).

Une investigation semblable a été menée en Ethiopie en 2020 sur des mammites cliniques cette fois. Parmi 83 isolats, 32 (38,6%), 24 (28,9%), et 6 (7,2%) ont respectivement permis d'identifier *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus*. Parmi les autres bactéries isolées se trouvaient *Escherichia coli* pour 12 échantillons (14,5%) et *Streptococcus* spp. pour 2 (2,4%) (Kasa, Tegegne, Tadesse 2020).

Dans une étude parue en 2007, Koivula et al. ont analysé une grande quantité de données datant de 2002 et 2003 en Finlande, avec des mammites cliniques et subcliniques représentant respectivement environ deux tiers et un tiers des mammites. Les quartiers pour lesquelles la culture bactérienne était positive (72,4% des prélèvements) révélait une prévalence de *Streptococcus uberis* de 16,6% ; 29,6% étaient positifs pour des SCN et 22,3% pour *Staphylococcus aureus*. Les échantillons positifs pour *E. coli* ne représentaient quant à eux que 4,9% des prélèvements positifs (Koivula et al. 2007). Des données plus récentes donnent des répartitions similaires : en 2017, les principaux agents pathogènes identifiés sur prélèvement de lait mammitique en Finlande étaient les SCN (43%), suivis de *S. aureus* (21%), *S. uberis* (9%), *S. dysgalactiae* (8%), *C. bovis* (7%) et *E. coli* (5%) (Vakkamäki et al. 2017). Ces données

restent quasi constantes en 2018 : dans une étude menée sur des échantillons de lait de plus de 20 000 vaches récoltés entre 2010 et 2012, Heikkilä et al. ont détecté des staphylocoques coagulase-négatifs sur 46% des échantillons positifs et *Staphylococcus aureus* dans 25,5% des cas. *Streptococcus uberis* a été identifié dans 8,4% des cas. *Streptococcus dysgalactiae* quant à lui a été identifié dans 7,9% des cas. *Corynebacterium bovis* était l'agent de 6,7% des mammites, très majoritairement (89%) subcliniques et survenant pour moitié en fin de lactation. Enfin, *E. coli* a été identifiée dans 5,6% des cas (Heikkilä et al., 2018).

En 2021, Acharya et al. ont analysé des données de 2017 provenant de l'Ontario, Canada. 36,21% des échantillons de lait analysés ont permis une croissance bactérienne. Les agents pathogènes le plus communément identifiés étaient *Staphylococcus aureus* (22,3%), des SCN (15%) – parmi lesquels *Staphylococcus chromogenes* (69,02%), *Staphylococcus simulans* (14,45%), *Staphylococcus epidermidis* (12,99%), et *Staphylococcus hyicus* (2,13%) –, *Corynebacterium* spp. (10%) et *Escherichia coli* (4%) (Acharya et al. 2021).

Une fois passé ce tour d'horizon international, si l'on s'intéresse aux prévalences en France, Bidaud et al. ont étudié en 2010 464 prélèvements de lait de mammites subcliniques ou cliniques ayant eu lieu dans des élevages français entre 2005 et 2007. Ils ont identifié dans 70% des cas des bactéries majeures : *Streptococcus uberis* (25% des isolats), suivi par *Escherichia coli* (18%) puis les SCN (14%) et *Staphylococcus aureus* (13%) tandis que *Klebsiella* spp. était identifiée dans 4,7% des cas (Bidaud, Houffschmitt, Viguerie 2007).



Tableau 2 : Prévalence des principaux agents pathogènes lors de mammites bovines dans plusieurs endroits du monde, en pourcentage du total (production personnelle, 2024).

	<i>E.coli</i> et autres entérobactéries	<i>S.aureus</i>	SCN	Streptocoques	<i>C.bovis</i>	Entérocoques
Algérie (Mesniki et al., 2021)	14,1%	NR	43,8%	NR	NR	12,3%
Canada (Acharya et al., 2021)	4%	22,3%	15%	NR	10%	NR
Côte d’Ivoire (Kouaho et al., 2023)	38%	18%	NR	NR	NR	NR
Ethiopie (Gezehagn Kasa et al., 2020)	14,5%	38,6%	36,1%	2,4%	NR	NR
Finlande (Heikkilä et al., 2018)	5,6%	25,5%	46%	8,4% ( <i>S. uberis</i> ) 7,9% ( <i>S. dysgalactiae</i> )	6.7%	NR
France (Bidaud et al., 2007)	18% ( <i>E. coli</i> ) 4,7% ( <i>Klebsiella</i> spp.)	13%	14%	25% ( <i>S. uberis</i> )	NR	NR
Ouganda (Kateete et al., 2013)	12%	21%		13%	NR	16%
Rwanda (Mpatswe-numugabo et al., 2017)	1,5%	20,6%	51,5%	10.3% ( <i>Streptococcus</i> spp.) 5.8% ( <i>S. agalactiae</i> )	NR	NR

Légende : NR = Non Renseigné.

Une précédente publication de Poutrel datant de 2008 et résumant 3 essais différents sur plus de 7 départements français donnait les résultats suivants : les prévalences de *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, des SCN et de *Staphylococcus aureus* étaient respectivement de 47,2%, 26%, 7,2%, 5,8% et 5%. Ces espèces bactériennes sont en cause dans plus de 90% du total des cas et les cocci Gram positif, staphylocoques et streptocoques sont impliqués dans environ 45,5% des cas (Poutrel, Fromageau 2008).

Concernant les mammites sévères, Salat et al. ont publié en 2023 une étude menée sur des échantillons de lait provenant de 19 cliniques situées dans des bassins bovins laitiers en France (Salat et al. 2023) (Tableau 3). Plus de la moitié sont causées par *E. coli*, et dans une proportion non négligeable (10,8%) par *S. uberis*.

Tableau 3 : Distribution brute et corrigée des pathogènes isolées dans respectivement 2087 cas et 1208 cas de mammites cliniques sévères en France (Salat O, Lemaire G, Durel L, Perrot F ; Etiology of severe mastitis in French dairy herds, 2023).

Isolated pathogens	Raw distribution		Corrected distribution	
	Nb of isolates	%	Nb of isolates	%
<i>Escherichia coli</i>	1118	53.6%	651	53.9%
other Gram-	128	6.1%	90	7.5%
<i>Staphylococcus aureus</i>	182	8.7%	97	8.0%
NaS <sup>a</sup>	132	6.3%	75	6.2%
<i>Streptococcus uberis</i>	239	11.5%	131	10.8%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	46	2.2%	20	1.7%
other Streptococci/Enterococcus	52	2.5%	41	3.4%
<i>Trueperella pyogenes</i>	28	1.3%	15	1.2%
other Gram+	5	0.2%	5	0.4%
No growth	148	7.1%	79	6.5%
Yeasts, fungi	9	0.4%	4	0.3%

<sup>a</sup>Non-aureus staphylococci.

Concernant les agents pathogènes de mammites considérés comme mineurs, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus* et *Prototheca* spp. ont été identifiés dans moins de 2% des échantillons en France (Bidaud, Houffschmitt, Viguerie 2007). La prévalence des mammites à mycoplasmes est considérée comme quasi nulle en France et comme faible en Europe (Theron et al. 2010).

Ce tour d'horizon, non exhaustif, permet donc de constater des hétérogénéités selon les régions du monde et les périodes. Dans un même secteur géographique, les dynamiques sont susceptibles de changer au fil du temps (Acharya et al. 2021). Cependant, certains agents pathogènes sont quasi invariablement représentés : *Staphylococcus* spp. dont *S. aureus*, *Streptococcus* spp. dont *Streptococcus uberis* et *Escherichia coli*.

### C. Principes de traitement, pronostic et mesures de contrôle et de prévention

#### i. Principes de traitement des mammites en lactation

De manière quasi systématique, le traitement des mammites repose sur l'administration d'un antibiotique par voie locale (intra-mammaire), plus ou moins d'un anti-inflammatoire et d'une antibiothérapie par voie générale voire d'un traitement de soutien (fluidothérapie, oligo-éléments et vitamines, apport énergétique) que l'on réserve généralement aux mammites cliniques sévères. De nombreuses publications concluent qu'il est important d'adapter l'antibiothérapie au grade de la mammite et à l'agent pathogène préalablement identifié par bactériologie et plébiscitent l'administration systématique d'un anti-inflammatoire non stéroïdien par voie générale (McDougall, Bryan, Tiddy 2009; Rémy 2010; Mansion-de Vries, Hoedemaker, Krömker 2015).

L'antibiotique doit pouvoir atteindre une concentration suffisante dans le lait, voire pour certains agents pathogènes, dans le tissu mammaire (Ziv 1980a; Pyörälä 2009).

La voie intra-mammaire permet une bonne concentration dans le lait, puis l'antibiotique passe dans le parenchyme et enfin dans le sang via les acini mammaires. Ainsi, une diffusion générale

de l'antibiotique dans l'organisme de l'animal est possible, ce qui explique que le lait de tous les quartiers doit être jeté durant le temps d'attente et qu'il y ait également des temps d'attente viande pour un certain nombre de préparations. Cependant, lors d'infection mammaire, la diffusion locale de l'antibiotique peut être entravée par une obstruction des canaux galactophores et de l'embouchure des acini par des débris inflammatoires, du pus ou une compression des canaux causée par la congestion (Bousquet-Melou 2022).

Concernant le passage du sang au lait recherché lors d'injection parentérale, trois propriétés sont particulièrement importantes : la liposolubilité de la molécule antibiotique, son degré d'ionisation et le degré de liaison aux protéines du plasma et de la mamelle (Ziv 1980a). Le pKa de l'antibiotique et le pH du sang et du lait sont des paramètres importants pour la diffusion passive. En effet, seules les formes non ionisées, liposolubles et non liées aux protéines passent les membranes, mais seules les formes ionisées sont biologiquement actives. Ainsi, dans des conditions physiologiques (pH du sang = 7,4 et pH du lait = 6,6) et pour un acide faible, il y a plus de formes ionisées dans le sang que dans le lait ; inversement pour une base faible la majorité des formes ionisées se trouvent dans le lait. Un autre paramètre important est la liposolubilité des antibiotiques, plus elle est élevée, meilleur est le passage des membranes cellulaires saines et donc la diffusion. Lors d'inflammation cependant, à la faveur de l'altération des membranes et de l'alcalinisation du lait, la diffusion des acides faibles peu lipophiles tels que la benzylpénicilline (ou pénicilline G) devient meilleure. Cette dérégulation de la barrière sang-lait lors de mammite aigue permet de meilleures concentrations en molécules antibiotiques dans la mamelle infectée que dans une mamelle saine (Bousquet-Melou 2022; Ziv 1980a). Un antibiotique utilisé par voie intramusculaire doit posséder les meilleures caractéristiques possibles pour les paramètres suivants : CMI basse vis-à-vis des agents pathogènes ciblés, grande biodisponibilité, faible degré de liaison aux protéines plasmatiques, majoritairement non-ionisé dans le plasma, bonne liposolubilité, demi-vie dans le sang aussi grande que possible (Ziv 1980a). La comparaison des concentrations d'antibiotiques dans le lait après une injection intramusculaire pour plusieurs principes actifs provenant de nombreuses familles différentes donne les meilleurs résultats pour le pénéthamate (Ziv 1980a).

Il existe 22 préparations antibiotiques intra-mammaires ayant une AMM pour les vaches laitières en lactation (Anses 2024). En première intention, afin de limiter l'utilisation d'antibiotiques critiques, il est important de prendre en compte la classification A, B, C ou D selon l'European Medicines Agency (2019) de chacun des antibiotiques utilisés (Figure 4). On préférera la catégorie D qui est la moins sensible, puis la C, à défaut la B. Il n'existe pas en France d'antibiotique intra-mammaire avec AMM vache laitière en lactation qui contienne un antibiotique de catégorie A (critique, à éviter). Les spécialités avec un antibiotique de catégorie D sont essentiellement à base de pénicillines (spectre Gram +). On les utilise en première intention si l'on a une forte suspicion ou la preuve après bactériologie que la mammite est causée par un germe Gram +. Sinon, on pourra utiliser des spécialités à large spectre qui contiennent pour beaucoup des antibiotiques de catégorie C, certains de catégorie B. Le temps d'attente lait est également un facteur potentiel de décision, ainsi que la présence ou non d'anti-inflammatoires stéroïdiens (prednisolone) dans la préparation qui ont souvent un effet anti-inflammatoire visible apprécié par les éleveurs mais remis en cause par de nombreux vétérinaires pour le risque d'effet localement immunosuppresseur et le passage en quantité inconnue dans le sang (Rémy 2010).

Category A <b>Avoid</b>	Category B <b>Restrict</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• antibiotics in this category are not authorised as veterinary medicines in the EU</li> <li>• should not be used in food-producing animals</li> <li>• may be given to companion animals under exceptional circumstances</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antibiotics in this category are critically important in human medicine and use in animals should be restricted to mitigate the risk to public health</li> <li>• should be considered only when there are no antibiotics in Categories C or D that could be clinically effective</li> <li>• use should be based on antimicrobial susceptibility testing, wherever possible</li> </ul>
Category C <b>Caution</b>	Category D <b>Prudence</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• for antibiotics in this category there are alternatives in human medicine</li> <li>• for some veterinary indications, there are no alternatives belonging to Category D</li> <li>• should be considered only when there are no antibiotics in Category D that could be clinically effective</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• should be used as first line treatments, whenever possible</li> <li>• as always, should be used prudently, only when medically needed</li> </ul>

Figure 4 : Catégorisation des substances antibiotiques selon la priorité d'utilisation (European Medicines Agency, 2019).

Le pourcentage moyen de guérison obtenu lors de mammite clinique varie en fonction de l'agent pathogène identifié. Une mammite à *S. aureus* identifié comme résistant à la pénicilline n'a que 30% de chances de guérir, tandis que les mammites à *E. coli* ont des taux de guérison de 90%. Pour *S. uberis*, les SCN et *S. aureus* sensible à la pénicilline, les pourcentages de guérison se situent autour de 60% (Rémy 2010).

Il est important de considérer l'intensité des symptômes présentés par l'animal, le degré d'ancienneté de l'infection mammaire objectivé par la survenue antérieure récente d'un épisode de mammite et des CCSI récents supérieurs à 200 000 cellules/mL, et le contexte d'élevage. Une mammite chronique orientera l'antibiothérapie vers un spectre étroit ciblant la bactérie incriminée et un allongement de la durée de traitement comparativement à une mammite aiguë (Rémy 2010).

Les voies locale (intra-mammaire) et systémique d'administration d'antibiotiques présentent chacune des avantages et des inconvénients résumés dans le Tableau 4. Selon les situations on utilisera l'une, l'autre ou les deux en association.

Tableau 4 : Voies d'administration des antibiotiques mammaires : avantages et inconvénients (Rémy, Les mammites, 2010).

	Avantages	Inconvénients
Voie locale	Moindre consommation d'antibiotiques. Risque moindre de sélection de résistance. Administration peu douloureuse. Concentration d'antibiotiques dans le lait élevé. Coût de traitement moindre.	Obstacles (caillots, congestion mammaire) à la diffusion du produit. Risque de contamination lors de la réalisation de l'injection intra-mammaire. Traitements répétés qui limitent la diffusion du produit dans la mamelle.
Voie générale	Atteinte de l'ensemble de la mamelle. Effets possibles sur des infections (cliniques ou sub-cliniques) localisées aux autres quartiers. Voie essentielle si risque de généralisation de l'infection à l'ensemble de l'organisme.	Choix limité aux molécules à bonne diffusion mammaire. Risque plus élevé de sélection de résistance (en particulier de la flore digestive). Coût supérieur. Administration plus douloureuse.

### 1. Mammites cliniques de grade 3 dites sévères en lactation

Il est fortement recommandé de traiter les mammites cliniques sévères avec une antibiothérapie par voie générale et une fluidothérapie de soutien (Erskine, Wagner, DeGraves 2003; Wenz et al. 2001) associés à une antibiothérapie par voie diathélique.

L'antibiothérapie peut se permettre d'être à large spectre en première intention étant donné la réserve sur le pronostic vital de l'animal. Pour l'antibiotique intra-mammaire, Bosquet et al., 2013 recommandent une association large spectre Gram + et Gram - de type  $\beta$ -lactamine/aminoside, amoxicilline/acide clavulanique ou bacitracine/néomycine. Le traitement par voie générale a pour but de lutter contre la bactériémie et cible les bactéries Gram - avec des fluoroquinolones, du sulfamide/triméthoprime, des aminosides ou de la colistine (Bosquet 2013). Plus récemment au congrès de la Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires (SNGTV) de 2023, Fortineau présente la conclusion suivante d'après la réunion de consensus de Madec, Bousquet-Melou et Belbis : la gravité d'une mammite sévère justifie le recours par voie systémique aux fluoroquinolones, antibiotiques critiques dont l'utilisation est encadré par la réglementation nationale et européenne et devant être soutenue par un examen clinique effectué par le vétérinaire de chaque animal malade et par le caractère exceptionnel de ces infections mammaires. Pour une efficacité maximale, la posologie en *one shot* est recommandée aux doses indiquées dans le résumé des caractéristiques du produit à savoir 10 mg/kg pour la marbofloxacin ou 6 mg/kg pour la danofloxacin (Igoho-Moradel 2023a).

Sur des états de déshydratation peu sévère (inférieure à 10%), l'administration de soluté hypertonique à base de chlorure de sodium NaCl par voie intra-veineuse associée à une prise de boisson spontanée ou le cas échéant à un drenchage de 10 à 30 litres d'eau est préconisée. En revanche, dans les cas plus sévères, l'utilisation de solutés hypertoniques est à proscrire et on recommandera la perfusion de soluté isotonique (Ringer Lactate ou NaCl 0,9%) en quantités très importante de l'ordre de 40 à 60 litres (Le Page 2014).

## 2. Mammmites cliniques de grade 1 ou 2 en lactation

Les mammmites subcliniques et cliniques non sévères (grade 1 ou 2) sont la grande majorité du temps traitées avec un antibiotique par voie locale, qui doit être le mieux adapté possible. Concernant les mammmites de grade 2, pour lesquelles le quartier présente des signes d'inflammation, il est recommandé d'opter soit pour une préparation intra-mammaire avec une bonne capacité de diffusion, soit pour une injection parentérale pourvu que le principe actif puisse bien diffuser du sang au lait, ou encore une combinaison des deux (Rémy 2010).

Il est important en première intention de se renseigner sur le modèle épidémiologique prédominant dans l'élevage, qui peut diriger vers différents agents pathogènes. De plus en plus de cliniques proposent systématiquement une bactériologie du lait qui permet dans les 24 à 48 heures suivant la détection d'avoir une identification de l'agent pathogène, plus ou moins précise mais suffisante pour adapter efficacement le traitement (Pyörälä 2009). Une distinction entre Gram + et Gram – est rapide à faire. Dans des cas de mammmites non sévères, un délai de 24 heures entre le diagnostic et le début du traitement dans l'attente d'un résultat d'identification bactérienne ne nuit ni aux chances de guérison, ni à la production laitière, et n'augmente pas le risque de réforme ou de récurrence de la mammite (de Jong, Creyten, Vlieghe, et al. 2023; Bates et al. 2020).

Les germes responsables de la majorité des mammmites en France présentent globalement peu de résistances aux antibiotiques (Rémy 2010; Barde, Lequeux 2019) ce qui justifie un recours en première intention à des antibiotiques non critiques, à spectre aussi étroit que possible, sans nécessité de réaliser un antibiogramme de prime abord. La réalisation d'une identification de l'agent pathogène à l'aide d'une bactériologie est toutefois recommandée pour mettre en œuvre un traitement antibiotique ciblé.

Le traitement des infections à *Staphylococcus aureus* dépend de deux paramètres clés : la sensibilité ou non à la pénicilline, objectivée facilement par un test à la nitrocéfine ou la réalisation d'un antibiogramme, et la capacité de l'agent pathogène à coloniser le tissu mammaire ce qui le rend très difficilement accessible par l'antibiotique. Cette dernière caractéristique fera préférer le pénéthamate (ester de pénicilline G à grand pouvoir de diffusion) et les macrolides si le germe y est sensible (Rémy 2010).

Les SCN, eux, ne semblent pas pouvoir coloniser le tissu mammaire profond mais peuvent présenter des résistances élevées aux antibiotiques, ce qui rend la réalisation d'un antibiogramme très pertinente après des échecs de traitement (Rémy 2010).

Le traitement des infections à *S. uberis* est détaillé ci-après. Pour l'ensemble des streptocoques communément impliqués dans des mammmites cliniques, la pénicilline G est la molécule de choix en première intention car ces bactéries y présentent de très bonnes sensibilités à hauteur de plus de 90% (Rémy 2010; Pyörälä 2009).

Les infections mammaires à colibacilles qui ne sont pas sévères guérissent pour la majorité aisément avec n'importe quel antibiotique à spectre Gram – ou large, et même très souvent spontanément (Rémy 2010).

Les entérocoques quant à eux sont la plupart du temps résistants à la pénicilline G, ce qui fera choisir un autre antibiotique en première intention (Rémy 2010).

En l'absence de bactériologie, l'épidémiologie est déterminante. Un modèle contagieux faisant penser à une contamination par des bactéries Gram + fera préférer l'utilisation d'antibiotiques

de type pénicilline M, céphalosporines de 1<sup>e</sup> et 2<sup>e</sup> générations, lincosamides. Si l'on suspecte plutôt des streptocoques (historique de l'élevage, différents modèles épidémiologiques possibles) on favorisera pour l'antibiothérapie intra-mammaire la famille des  $\beta$ -lactamines (benzylpénicilline, pénéthamate). Dans les autres cas, la possible présence d'un germe Gram + ne pouvant pas réellement être exclue sans bactériologie, on utilisera par voie diathélique une association d'antibiotiques conférant un large spectre, par exemple parmi les suivantes :  $\beta$ -lactamine/aminoside, amoxicilline/acide clavulanique, bacitracine/néomycine (Bosquet 2013).

Pour l'administration d'un traitement de première intention par voie intra-mammaire, la durée de 3 jours de traitement est conseillée. Pour un traitement de seconde intention cependant, un allongement de la durée de traitement est recommandée et présente de bien meilleurs résultats notamment sur les infections persistantes à *S. uberis* et *S. aureus* (Rémy 2010; Krömker et al. 2010).

### 3. Mammites subcliniques

Les mammites subcliniques sont par habitude peu traitées au cours de la lactation au regard de l'absence de conséquences cliniques et des conséquences économiques modérées, mises en balance avec la perte de lait engendrée par le traitement. Les chances de guérison sont meilleures au tarissement (70 à 80%) qu'en lactation (50%). Pour certains agents pathogènes dont les staphylocoques coagulase-positifs, l'intérêt du traitement antibiotique de mammites subcliniques en lactation est défavorable économiquement car les taux de guérison ne sont pas meilleurs que sans traitement (Wilson et al. 1999).

Cependant, notamment lorsque les comptages cellulaires de la vache sont particulièrement élevés et pour réduire la pression d'infection au sein du troupeau, on peut tout à fait effectuer un traitement intra-mammaire au cours de la lactation, suivant la même logique que pour le traitement d'une mammite clinique non sévère en lactation (Bosquet 2013). Au regard des réglementations de plus en plus strictes sur les comptages cellulaires de lait de tank, l'intérêt de traiter grandit (Rémy 2010).

Le traitement des mammites subcliniques suppose d'identifier le ou les quartier(s) atteint(s), le plus souvent à l'aide d'un CMT. Un traitement de mammite subclinique devrait toujours être ciblé car il s'agit pour la majorité de mammites chroniques pour lesquelles l'élimination de l'agent pathogène est moins aisée (Rémy 2010).

Concernant les habitudes de traitement des vétérinaires praticiens, en 2015 Angoujard a constaté que 41% des 93 vétérinaires de terrain sondés prescrivent un traitement antibiotique en lactation lors de mammite subclinique. Les autres préfèrent préconiser un traitement au tarissement (Angoujard 2015).

#### ii. Principes de traitement au tarissement

Le traitement au tarissement a plusieurs objectifs : l'élimination des mammites subcliniques apparues pendant la lactation et la prévention des infections pendant la période sèche.

Il est primordial de traiter au tarissement une mammite qui n'a pas été traitée en lactation (Rémy 2010). L'utilisation d'antibiotiques par voie intra-mammaire au tarissement sur un quartier

infecté permet un taux de guérison pendant la période sèche supérieur de 178% à celui en l'absence de traitement antibiotique (Halasa et al. 2009).

Les différents traitements, que l'on peut associer, sont locaux ou systémiques. Par voie locale, l'utilisation d'une préparation antibiotique intra-mammaire et l'application d'obturateurs internes, tous deux au début de la période sèche est conseillée pour les vaches connues infectées au moment du tarissement. La grande majorité des obturateurs internes du marché ont pour principe actif le bismuth lourd (nitrate de bismuth), qui confère au produit la densité et l'élasticité nécessaires pour obturer le trayon durant toute la période sèche et ainsi prévenir d'éventuelles nouvelles infections ascendantes. En France, il existe au moins 20 spécialités intra-mammaires disposant d'une AMM pour vaches laitières hors lactation contenant différents antibiotiques (Anses 2024). De la même façon que pour un traitement en lactation, il convient de cibler le plus précisément possible l'agent pathogène impliqué à l'aide de l'historique de l'élevage, en considérant la dynamique épidémiologique des infections et idéalement en disposant d'une bactériologie sur lait pour la vache concernée. Cela permet de réduire le spectre de l'antibiotique en favorisant toujours les principes actifs les moins critiques. Dans le cas des traitements au tarissement, il existe des préparations à durée d'action courte, moyenne et longue. On préférera les durées courtes ou moyennes ainsi que l'utilisation d'un antibiotique en monothérapie (Bergonier 2023).

L'antibiotique choisi doit, comme pour la lactation, diffuser de manière satisfaisante dans la mamelle. L'involution mammaire favorise cette diffusion pendant la période sèche et maintient donc plus longtemps des concentrations de principe actif élevées (Bousquet-Melou 2022).

Différentes stratégies de traitement existent. L'antibiothérapie systématique consiste à traiter toutes les vaches au tarissement avec un antibiotique à spectre large, infectées ou non. Elle est éventuellement indiquée pour des élevages où la prévalence de mammites ou le risque d'infection durant la période sèche sont élevés. Cependant, toutes les vaches n'étant pas infectées à l'entrée en période sèche, l'utilisation systématique d'antibiotiques est de plus en plus considérée comme un gaspillage économique et une pratique à risque en terme d'antibiorésistance, voire susceptible de causer de nouvelles infections lorsque l'administration est mal réalisée. C'est pourquoi l'association d'une obturation du trayon systématique avec une antibiothérapie sélective est intéressante : elle permet une baisse de l'utilisation des antibiotiques pendant le tarissement. En pratique, comme il n'est économiquement pas réaliste de faire une bactériologie pour chaque quartier de chaque vache au tarissement, on utilise les derniers CCSI pour évaluer le statut d'une vache et décider de traiter ou non avec des antibiotiques (Rabiee, Lean 2013; Krömker, Leimbach 2017). Les vaches supposées saines (CCSI inférieurs tout le long de la lactation à 150 000 cellules/mL) ne reçoivent qu'un obturateur interne tandis que les vaches considérées comme infectées (mammite clinique ou au moins un CCSI supérieur à 150 000 cellules/mL en fin de lactation) ou douteuses (mammite ayant eu lieu au cours de la lactation, des CCSI supérieurs à 150 000 cellules/mL au cours de la lactation) reçoivent un antibiotique associé. Dans le cas des vaches douteuses l'antibiothérapie se discute, elle est particulièrement recommandée lorsqu'une circulation de *S. aureus* est objectivée dans le troupeau (Bergonier 2023).

Dans tous les cas, une bonne hygiène lors de l'application d'un dispositif intra-mammaire au tarissement est primordiale.

Concernant l'injection d'antibiotiques par voie systémique, elle est très rarement recommandée au tarissement car elle utilise une plus grande quantité d'antibiotique pour des résultats moins satisfaisants que par la voie intra-mammaire (Rémy 2010).



### iii. Facteurs influençant la probabilité de guérison

Plusieurs facteurs au niveau de l'animal sont considérés comme importants dans les chances de guérison bactériologique après une mammite.

En lactation, la présence de nodules dans le quartier, de graves lésions de la peau du trayon, d'un sphincter endommagé ou de persistance de l'infection entre deux lactations sont de très mauvais pronostic pour la guérison et constituent même une contre-indication au traitement et une indication à la réforme (Rémy 2010).

L'âge de la vache est déterminant : une vache plus âgée a moins de chances de guérir (Schukken et al. 2003; McDougall et al. 2007; Deluyker, Van Oye, Boucher 2005; Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016; Degen et al. 2015). Plus la mammite en cours est ancienne (comptages cellulaires élevés depuis plusieurs contrôles), moins les chances de guérison sont importantes. De la même manière, l'historique de la vache, à savoir l'existence de mammites précédentes dans la lactation en cours ou dans les années d'avant, signifie également des chances de guérison plus basses (Schukken et al. 2003; Ziesch, Krömker 2016; Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016; Degen et al. 2015). L'infection de plusieurs quartiers ou des quartiers arrières est également de pronostic réservé (Rémy 2010; Degen et al. 2015).

En ce qui concerne les infections à *S. aureus*, particulièrement persistantes, un remaniement fibreux et la présence d'abcès dans le quartier sont également de mauvais pronostic pour la guérison. La souche bactérienne impliquée peut-être productrice de bêta-lactamases, ce qui réduit les chances de guérison ; un dénombrement important en culture est également de mauvais pronostic (Bergonier 2023).

Inversement, une infection récente sur une vache jeune intéressant un ou maximum deux quartier(s) antérieur(s) sera du meilleur pronostic (Rémy 2010).

Les facteurs de risque de non-guérison des infections au tarissement sont également la parité, la production laitière de la vache, le nombre et la position des quartiers atteints ainsi que le germe en cause, le nombre et la valeur des derniers CCSI élevés avant traitement (Rémy 2010).

L'étiologie de la mammite est en effet un paramètre déterminant : certains agents pathogènes, souvent Gram -, présentent d'excellents taux de guérison bactériologique tandis que de nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* notamment sont très difficiles à éradiquer de la mamelle car elles possèdent des mécanismes de résistances (Eicher, Sutter-Lutz, Gerber 2002).

La précocité et la durée de traitement sont également des facteurs modulant la probabilité de guérison : un traitement précoce et long aura les meilleures chances de guérison bactériologique, toutes étiologies confondues (Oliver et al. 2004; Hillerton, Semmens 1999; Krömker et al. 2010).

### iv. Mesures de contrôle et de prévention

En raison de leurs conséquences qui seront abordées dans la suite de ce travail, prévenir la survenue de mammites est un enjeu capital en élevage bovin laitier. Il est possible d'agir sur un certain nombre de paramètres pour réduire les risques de nouvelles infections d'une part, et la gravité de l'expression clinique d'autre part.

Historiquement, au début des années 1970, un plan en 5 étapes est proposé par le National Institute for Research in Dairying au Royaume-Uni. Il est constitué de 5 points d'intérêt et concerne uniquement les mammites dont la transmission se fait selon un modèle contagieux. En 2007, le National Mastitis Council aux Etats-Unis propose un plan plus large en 10 points-clés. Ce plan prend mieux en considération les différents types épidémiologiques de mammites. Les éléments préconisés par ces plans se basent sur les principes détaillés ci-dessous.

## 1. Prévenir les nouvelles infections

La première action que l'on peut effectuer intéresse les réservoirs de germes. La source primaire d'agents pathogènes est l'environnement, en particulier la litière. Dans celle-ci, les facteurs de développement bactérien sont les matériaux de la litière, la température, l'oxygénation et l'humidité. L'humidité et l'oxygénation doivent être réduites en tassant suffisamment la litière, idéalement constituée de paille plutôt que de copeaux ou de sciure, et en maintenant une température peu élevée. Sur aire paillée, il est préférable de pailler tous les jours, en deux fois (une partie le matin, une partie le soir) avec une quantité de paille de 1 à 1,2kg/m<sup>2</sup>/jour soit 7 à 8 kg/vache laitière/jour. Le curage doit se faire lorsque 30 à 35°C à 10 centimètres de profondeur dans la litière sont atteints. Les conditions de logement sont primordiales, tout défaut dans l'aération du bâtiment, la surface minimale par vache (7m<sup>2</sup> de surface de couchage et 3,5m<sup>2</sup> d'aire d'exercice par vache) et la conception ou le nombre minimal de logettes (nombre de vaches laitières + 10%) accroît le risque de développement bactérien, notamment des agents responsables de mammites environnementales (Bergonier 2022c).

Le réservoir secondaire des agents pathogènes est le matériel de traite et les trayons des vaches. Il convient de désinfecter correctement les lavettes, idéalement avec un nettoyage en machine à 60°C ou 90°C associé à un produit détergent. L'élimination des premiers jets doit se faire dans un récipient dédié et non dans la main ou sur le quai de traite. Les gobelets de trempage doivent être anti-retour, on peut également utiliser les pulvérisations. Les manchons trayeurs en caoutchouc sont à renouveler toutes les 2500 traites avec un contrôle annuel de la machine à traire. En ce qui concerne la désinfection de celle-ci, l'utilisation en alternance d'un produit acide et d'un produit alcalin chloré est préconisée en respectant l'acronyme TACT : Température – Action mécanique – Concentration – Temps de contact (Bergonier 2022c).

Un deuxième point d'action concerne les mécanismes de transmission en particulier lors de la traite (Ruegg 2017). Avant la traite, il faut préparer la mamelle : le réflexe lactocinétique est provoqué par le nettoyage des trayons et l'éjection des premiers jets. L'extraction de ces premiers jets puis la désinfection à l'aide d'une lavette ou d'un pré-trempage sont fortement conseillées. Le produit doit pouvoir agir pendant 30 secondes, puis les trayons sont séchés et le branchement des manchons est effectué. Le délai entre les premiers jets et le branchement doit être de 60 à 90 secondes pour permettre l'action de l'ocytocine. Au niveau de l'efficacité de la désinfection, le pré-trempage est recommandé par rapport aux lavettes pour tous les types d'agents pathogènes à l'exception des spores butyriques pour lesquelles l'action mécanique a une meilleure efficacité. Il n'est pas utilisable en agriculture biologique (cahier des charges), lorsque les trayons sont souillés et s'il y a des résidus de produit filmogène. Une action mécanique est tout de même permise par l'essuyage papier (Bergonier 2022c).

Pendant la traite, il faut réduire au maximum les entrées d'air qui causent des phénomènes d'impact : des gouttelettes de lait sous pression peuvent remonter d'un quartier aux autres, et ainsi éventuellement les contaminer. Ces entrées d'air peuvent survenir en début de traite,

pendant la traite, ou en fin de traite ; certaines pratiques désormais désuètes comme l'égouttage ou la dépose manuels en sont aussi une cause. Une pose adaptée en début de traite, une tenue horizontale de la griffe et le maintien des tuyaux coudés jusqu'au branchement permettent de limiter ces entrées d'air. La traite ne doit pas être agressive pour les trayons, les vaches ne doivent pas piétiner ou taper en fin de traite, ce qui signe une douleur. Plutôt en fin de traite, le glissement ou la chute de manchons en raison d'une embouchure trop large, d'un faisceau trop lourd ou encore d'un niveau de vide trop bas sont des entrées d'air fréquentes : il s'agit de contrôler les paramètres pouvant en être la cause pour les prévenir.

On peut observer les trayons des vaches laitières après la traite, à la recherche d'anomalies : hyperkératose apicale, anneaux de compression, congestion, micro-hémorragies. Le seuil d'alerte est à 10% des vaches présentant des anneaux de compression ou de la congestion, 20% des vaches présentant une hyperkératose légère à modérée et 5% des vaches une hyperkératose sévère (Bergonier 2023).

Le contrôle de la machine à traire doit impérativement être réalisé tous les ans, avec une attention particulière portée au niveau de vide qui doit être entre 38 et 43 kPa ; les pulsations, donc les cycles de succion puis massage, doivent avoir une fréquence de 55 à 60 fois par minute, le temps de succion représentant 60% de la durée de la pulsation. On estime que, à 30 secondes près, le temps de traite pour 10kg de lait doit être de 5 minutes, 6 minutes pour 15kg de lait et 7 minutes pour 20 kg. Si ces temps sont allongés, il y a une surtraite (maintien du vide alors que l'éjection du lait est terminée) qui favorise les lésions des trayons (Bergonier 2022c).

Il est primordial de réserver un poste aux vaches infectées ainsi que d'avoir un ordre de traite dans lequel les vaches saines et primipares passent en premier, les vaches infectées en dernier. Le nettoyage et la désinfection corrects (trempe, pulvérisation d'acide peracétique et eau oxygénée) des manchons trayeurs est un point clé.

En fin de traite, on utilisera des produits de post-trempe ayant pour buts principaux la désinfection du trayon après la mise en contact potentielle avec des agents pathogènes pendant la traite, et la prévention d'infection par des bactéries de l'environnement avec un effet « barrière » physique. Il faut donc choisir un produit adapté aux enjeux de l'élevage (spectre antibactérien, effet barrière, cosmétique...). La pulvérisation est intéressante mais il faut veiller à ce qu'elle soit correctement réalisée, sur toute la surface des trayons. Le post-trempe permet le recouvrement de tout le trayon mais doit être effectué avec des gobelets anti-retour, gardés à l'abri des contaminations, régulièrement désinfectés et le produit de post-trempe doit être changé à chaque traite. Le post-trempe est un facteur clé permettant de diminuer les mammites, quelle que soit leur expression clinique. Les éleveurs utilisant un post-trempe observent moins de mammites sévères, à répétition et subcliniques (Samson, Schmitt, Gaudout, Cousin, et al. 2016).

Enfin, entre les traites il est conseillé d'empêcher le couchage des animaux car les sphincters des trayons sont encore ouverts et perméable aux germes notamment environnementaux. On peut pour cela distribuer la ration à ce moment-là. De plus, l'utilisation d'obturateurs internes au tarissement permet de prévenir la survenue d'une nouvelle infection en période sèche chez les vaches saines en fin de lactation (Rémy 2010).

Le troisième point d'action concerne la sensibilité des vaches. En effet, il est possible de diminuer l'incidence de mammites en s'assurant que le système immunitaire fonctionne de manière optimale : contrôle des maladies intercurrentes, complémentation adaptée en oligo-éléments et vitamines notamment sélénium et vitamine E mais aussi cuivre et zinc (Rémy 2010), limitation du stress, transitions alimentaires respectées et enfin sélection génétique (Ruegg 2017).

L'intérêt de la sélection de lignées plus résistantes aux mammites a été prouvé en race Prim'Holstein, sur la base des index SCS (comptages cellulaires) et MC (mammites cliniques) des taureaux. Une comparaison entre une lignée témoin et la lignée résistante a mis en évidence une différence significative de -11% d'incidence de mammites cliniques et des CCSI significativement plus faibles également (Barde 2019).

## 2. Diminuer la sévérité des signes cliniques

Comme pour toute autre affection, la sévérité des signes cliniques est modulée par l'état immunitaire de l'animal : un animal en bonne santé, correctement alimenté, complétement en minéraux, oligo-éléments et vitamines et déparasité a un système immunitaire plus à même de combattre efficacement l'infection. L'hygiène de l'élevage et le respect des mesures de biosécurité jouent un rôle important puisque la maîtrise de la circulation d'autres agents pathogènes participe à la bonne santé globale des bovins.

En péri-partum notamment, les vaches laitières sont particulièrement sensibles aux nouvelles infections à cause de la baisse passagère d'immunité autour du vêlage et la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène pendant la transition entre la fin de gestation et le pic de lactation, à l'origine d'un stress oxydatif. Ce stress est considéré comme un facteur majeur de plusieurs pathologies dont les mammites. Dans la période péri-partum, le corps ne parvient pas toujours à compenser ce stress grâce aux antioxydants naturellement produits. Pour pallier ce manque, l'apport extérieur d'antioxydants tels que le sélénium et les vitamines E et B9 notamment s'est révélé utile dans la lutte contre les effets négatifs de la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (Xiao et al. 2021; Khan et al. 2022).

Des paramètres génétiques individuels peuvent également expliquer les variations d'expression clinique entre des vaches en bonne santé atteintes de mammites. Il existe un polymorphisme génétique intéressant des gènes associés aux réactions immunitaires et inflammatoires. Il est possible de sélectionner à un jeune âge des vaches qui présenteront une plus faible sensibilité aux infections mammaires, sur la base de la génomique (Khan et al. 2023).

Enfin, la vaccination est un outil qui peut se révéler efficace, en association avec d'autres mesures, pour diminuer la sévérité des signes cliniques de mammites. L'efficacité vaccinale dans le cadre de mammites rencontre des obstacles majeurs : la mamelle en lactation est particulièrement propice à la multiplication bactérienne pour les espèces capables de dégrader le lactose ou les caséines, le lait dilué et emporte de nombreux composants du système immunitaire tels que les anticorps, le complément et les leucocytes, l'épithélium mammaire est dépourvu de mucus protecteur et les agents pathogènes concernés présentent eux-mêmes des variabilités génomiques et stratégies d'évitement du système immunitaire qui rendent la lutte encore plus difficile (Rainard 2019). Il existe en France en 2024 deux vaccins commercialisés disposant d'une AMM pour les mammites chez les vaches laitières. Ces deux vaccins sont produits par le laboratoire Hipra. Nous reviendrons en détail sur le vaccin Ubac® qui cible les mammites à *Streptococcus uberis*. L'indication du second vaccin, Startvac®, est la réduction de l'incidence des mammites subcliniques ainsi que de l'incidence et la sévérité des signes cliniques de mammites cliniques causées par *Staphylococcus aureus*, les coliformes et les staphylocoques coagulase-négatifs. Le vaccin contient une souche d'*Escherichia coli* (J5) inactivée et une souche inactivée (SP 140) de *Staphylococcus aureus*, exprimant un complexe antigénique associé à la production de slime, un composé majeur du biofilm bactérien. Les schémas vaccinaux des deux produits comportent trois injections en primo-vaccination. Le

vaccin Startvac® n'induit une immunité prouvée que jusqu'à 78 jours après la dernière injection, selon les documents fournis par Hipra. Des essais terrain ont montré une diminution de l'incidence de mammites staphylococciques et de la durée de l'infection (Schukken et al. 2014). Cependant, d'autres études ne retrouvent pas ces effets positifs et ce vaccin est peu efficace pour réduire l'incidence des nouvelles infections, les numérations cellulaires du troupeau et empêcher l'installation d'une infection staphylococcique chronique (Rainard 2019).

La vaccination contre les agents pathogènes responsables de mammites n'est utilisée que rarement en France au vu de la complexité des schémas vaccinaux et du coût important de la vaccination, d'autant qu'ils n'empêchent pas l'infection et ne dispensent absolument pas de la mise en œuvre des autres mesures de contrôle et de prévention des mammites.

#### D. Enjeux en élevage : coût, santé publique, exigences réglementaires, bien-être animal et humain

##### i. Exigences réglementaires

La section IX du Règlement (CE) n°852/2004 du Paquet Hygiène donne les attendus réglementaires sur les produits laitiers et au lait cru au niveau européen. Il est notamment imposé que le lait provenant d'animaux présentant des signes cliniques de maladie affectant la mamelle ne soit pas utilisé pour la consommation humaine si ce n'est conformément aux instructions d'un vétérinaire ; de plus, le lait cru de vache doit satisfaire aux exigences suivantes : comptages cellulaires inférieurs à 400 000 cellules/mL (moyenne géométrique variable constatée sur une période de trois mois, avec au moins un prélèvement par mois, sauf si l'autorité compétente définit une autre méthodologie) et teneur en germes à 30°C inférieure à 100 000 germes/mL (moyenne géométrique variable constatée sur une période de deux mois, avec au moins deux prélèvements par mois). Concernant le lait de vache transformé utilisé pour préparer des produits laitiers, il doit avoir une teneur en germes inférieure à 100 000 par mL à une température de 30°C. La moyenne nationale des comptages cellulaires est en baisse depuis plusieurs années, atteignant 270 000 cellules/mL en 2020 (Observatoire des cellules 2024) ; cependant, de nombreux éleveurs restent concernés par des pénalités plus ou moins récurrentes voire des interdictions de collecte qui ont un coût très important.

Quant à la présence de résidus antibiotiques dans le lait, selon le même règlement européen, il est impératif que les animaux soumis à un traitement qui risque de faire passer des résidus médicamenteux dans le lait soient identifiés et que le lait provenant de ces animaux avant la fin du délai d'attente prescrit ne soit pas utilisé pour la consommation humaine. Il est interdit de mettre sur le marché du lait cru dont la teneur en résidus d'antibiotiques dépasse les niveaux autorisés pour l'une des substances visées aux annexes I et III du règlement (CEE) n°2377/90 (1), ou si le total combiné des résidus de toutes les substances antibiotiques dépasse une valeur maximale autorisée. Lesdites annexes donnent les Limites Maximales de Résidus (LMR) autorisées pour chaque substance pharmacologiquement active d'intérêt, espèce animale et tissu cible. Pour les antibiotiques, les LMR fixées dans le lait de bovin vont de 4 µg/kg (plusieurs molécules de la famille des pénicillines : pénéthamate, ampicilline, amoxicilline et benzylpénicilline) à 1500 µg/kg pour la néomycine, avec des LMR pour la majorité des substances actives situées entre 40 et 200 µg/kg.

Depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2020, les livraisons de lait de chaque exploitation sont systématiquement contrôlées (recherches de résidus antibiotiques). Un premier test est réalisé sur l'échantillon citerne avant le dépotage de la citerne. Ce test est placé sous la responsabilité du collecteur. Parmi les tests disponibles sur le marché, le test rapide est choisi par le collecteur de manière à satisfaire au mieux les exigences réglementaires en matière de résidus d'antibiotiques et à garantir, *a minima*, la détection des molécules de tétracyclines et bêta-lactamines (Interprofession laitière 2019). Un second test est effectué en Laboratoire Interprofessionnel d'Analyse Laitières (LIAL). Le 11 octobre 2019, le Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière (CNIEL) publie une note d'information sur la méthodologie officielle en LIAL de recherche de résidus antibiotiques dans le lait de ruminant. Une étape de dépistage est effectuée via le test DELVOTEST® T qui évalue l'inhibition de la croissance de la bactérie *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*. Si ce premier test est négatif, l'échantillon de lait est reconnu sans résidus antibiotiques excédant les LMR. En revanche, si ce dépistage est positif, s'en suit une étape de confirmation par les tests CHARM® ROSA MRL BLTET, CHARM® NEOSTREP-G et CHARM® QUAD2. Ces trois tests rapides immunochromatographiques sur bandelette effectués en même temps recherchent respectivement les résidus : de bêta-lactamines et tétracyclines ; de néomycine, streptomycine et gentamicine ; et de macrolides. Si l'un de ces tests au moins est positif, alors l'échantillon de lait sera considéré positif pour la ou les substance(s) antibiotique(s) en question.

Lorsqu'un résultat positif est obtenu sur un test de dépistage de l'échantillon citerne (que ce soit le laboratoire reconnu ou un autre laboratoire qui l'ait réalisé), le collecteur a l'obligation d'informer sans délai l'autorité compétente du lieu où la citerne a été trouvée positive (*Règlement (CE) n° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale* 2004), en précisant: le numéro d'identification de la citerne, la date d'analyse ayant conduit à un résultat positif et les coordonnées complètes du ou des producteur(s) responsable(s) de la positivité de la citerne. L'intégralité du lait de la citerne est alors détruit. Tout producteur dont le lait est détecté positif est redevable au collecteur d'une participation de 250 €. Les frais de destruction du lait, de collecte, d'immobilisation de la citerne et de dédommagement des autres producteurs sont à la charge du producteur dont le lait est testé positif, toutefois il peut bénéficier d'aides du CNIEL.

## ii. Pertes économiques pour l'éleveur

Techniquement, on différencie les pertes (manque à gagner) des coûts (dépenses supplémentaires).

Selon une étude menée par Heikkilä et al. publiée en 2018, l'impact économique des mammites inclut les coûts directs du diagnostic, du traitement et du service vétérinaire, du travail supplémentaire fourni ainsi que la perte du lait jeté. Les pertes indirectes sont associées à la diminution de production laitière, à la dégradation des paramètres de reproduction, aux réformes prématurées souvent liées à la présence persistante de cellules en quantité très augmentée, et à la nécessité de remplacer les vaches réformées. On peut y ajouter les coûts liés à la prévention (Heikkilä et al. 2018). De plus, en cas de mammite, la composition du lait est souvent modifiée : on retrouvera moins de protéines utiles à la coagulation (caséines) et de gras, plus de bactéries et de leucocytes. En cas de mammite subclinique, le lait perd donc en qualité et l'augmentation du comptage cellulaire peut conduire à un paiement moins avantageux par la

laiterie (Nielsen 2009). Bien sûr, les charges et le prix du lait diffèrent selon les zones géographiques.

Les charges de maîtrise varient finalement peu selon que l'élevage est peu sujet ou très sujet aux mammites : selon une étude du CNIEL menée en Saône-et-Loire, un peu plus de 3000€ en moyenne sont dépensés par an dans les élevages où les comptages cellulaires moyens n'excèdent pas 200 000 cellules/mL pour l'hygiène de traite, les traitements préventifs et curatifs ainsi que les frais d'analyse (Les mammites, j'anticipe! 2024). Pour les élevages ayant des comptages cellulaires moyens au-delà de 350 000 cellules/mL, ces charges ne montent qu'à un peu plus de 3300€, la différence étant principalement imputable au coût de traitement des mammites. C'est le manque à gagner qui est très important dans les élevages fortement sujets aux mammites par rapport à des élevages sains : d'après la même étude du CNIEL, l'impact économique le plus important pour les élevages à forte prévalence de mammites se situe au niveau des pertes : pour des élevages où les comptages cellulaires moyens excèdent 350 000 cellules/mL, les pénalités appliquées aux éleveurs ainsi que le lait non-produit ou jeté représentent plus de 10 000€ de manque à gagner par an, soit 11 fois plus que les élevages à faible prévalence de mammites (comptages cellulaires moyens inférieurs à 200 000 cellules/mL).

Les pénalités appliquées lors de la livraison de lait sont liées à trois critères principaux. Le comptage cellulaire est réalisé une fois par semaine pour chaque producteur. Selon les régions, le seuil est entre 300 000 et 400 000 cellules/mL, et les pénalités sont autour de 6 à 12€/1000L. Concernant la présence de germes, la pénalité peut monter jusqu'à 60€/1000L selon le nombre de germes, bien que pour les filières lait pasteurisé il n'y ait pas véritablement d'impact en santé publique puisque les germes sont détruits lors du traitement thermique. Enfin, la présence de résidus inhibiteurs microbiens entraîne une pénalité forte, à hauteur de 125% de la valeur du lait livré le jour de la positivité. Cette pénalité incite au respect des temps d'attente (Bergonier 2022a).

De manière générale on estime en moyenne la perte de lait à 0,5 kg/jour de lactation à chaque doublement du comptage cellulaire, à partir de 50 000 cellules/mL (Bergonier 2022a).

Dans l'étude d'Heikkilä et al. datant de 2018, la plus grosse perte de production laitière est causée par les mammites à *E. coli* survenant avant le pic de lactation : sur 305 jours de lactation, le pourcentage de lait perdu est estimé à 10,6%. Globalement, les pertes de production laitière causées par les bactéries Gram – (telles que les coliformes) et les streptocoques sont les plus importantes. Les mammites associées à d'autres pathogènes, parfois même mineurs, peuvent provoquer des pertes importantes allant de 5,7% pour les staphylocoques autres que *S. aureus*, à 7,4% de la production pour *C. bovis*, ce qui est loin d'être négligeable (Heikkilä et al. 2018).

D'après Cha et al., dans une étude parue en 2011 étudiant les coûts de différents types de mammites chez la vache laitière utilisant un modèle de programmation dynamique, le coût moyen pour l'éleveur par cas de mammites clinique à bactérie Gram + est de 133,73 dollars US (124,82 euros au 14 février 2024) ; il est de 211,03\$ (196,98€) pour les mammites cliniques causées par des germes Gram -, et de 95,31\$ (88,96€) pour les mammites cliniques causées par d'autres agents pathogènes. Les pertes estimées sont fonction de paramètres dont l'importance varie selon le type de germe, à savoir le coût du traitement, la perte de lait et la baisse de la fertilité. La perte financière pour l'éleveur baisse avec le nombre de lactations de la vache et augmente avec son potentiel génétique en production de lait (Cha et al. 2011). Dans la même lignée, une publication de 2014 estime le coût moyen d'une mammites clinique en lactation à 216,11\$ (201,2€) avec un coût particulièrement important des mammites cliniques à germes Gram – (477\$ (444€) pour *Klebsiella* spp et 361\$ (336€) pour *E. coli*), le coût le moins

important étant celui des mammites cliniques à staphylocoques autres que *S. aureus* (135\$ soit 125,7€) (Cha et al. 2014).

En France, une méta-analyse récente permet d'estimer que le coût des mammites cliniques à bactéries Gram - est de 457€ environ contre 101€ par cas pour les mammites cliniques causées par des agents pathogènes Gram + (Raboison et al. 2020). Cette différence majeure est explicable par la sévérité des mammites à Gram – qui nécessitent fréquemment un traitement plus complet (visite vétérinaire, anti-inflammatoires, antibiotiques, fluidothérapie) et donc coûteux ; de plus, la perte de lait peut s'avérer conséquente.

### iii. Risques en santé publique

Les risques en santé publique concernent le lait cru et les fromages au lait cru, qui n'ont pas reçu de traitement thermique : en cas de contamination de la matière première par des agents pathogènes, ceux-ci ne sont donc pas forcément éliminés avant commercialisation des produits.

Dans leur avis scientifique sur les risques pour la santé publique associés au lait cru dans l'Union Européenne daté de 2015, les experts du groupe scientifique de l'European Food Safety Authority (EFSA) sur les dangers biologiques (groupe BIOHAZ) concluent que le lait cru peut constituer une source de bactéries nocives – principalement *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. et *Escherichia coli* productrices de shigatoxines (STEC), *Brucella melitensis*, *Mycobacterium bovis* et le virus de l'encéphalite à tiques (Hazards (BIOHAZ) 2015). Si l'on se base sur les données communiquées par les États membres concernant les foyers de maladies d'origine alimentaire, entre 2007 et 2013, 27 foyers ont été relevés ; dans 21 cas, la bactérie impliquée était *Campylobacter* spp. La grande majorité de ces foyers ont été causés par du lait de vache. Les différentes raisons pour lesquelles le lait peut être contaminé sont intrinsèques (vache ayant une maladie systémique ou une mammite) ou extrinsèque (contamination du lait par des germes de l'environnement, notamment fécaux).

Il en découle le même risque en ce qui concerne la consommation de fromages au lait cru. Dans une publication de 2020, le Ministère de l'Agriculture met en garde les personnes immunodéprimées contre la consommation de fromages au lait cru, qui représentent près de trois quarts des volumes de fromages français commercialisés sous signes d'identification de la qualité et de l'origine. Les bactéries mises en cause sont principalement *E. coli*, *Salmonella* spp. et *Listeria monocytogenes*.

La surveillance et le contrôle des mammites, cliniques ou non, sont donc à ce titre d'une vraie importance en santé publique. La consommation de lait cru et de fromage au lait cru constitue un risque faible mais réel et des campagnes de sensibilisation ont été menées par les autorités afin d'informer sur les bonnes pratiques d'hygiène à adopter par chacun en cuisine.

### iv. Antibiorésistances connues et suspectées

En 2014 dans le monde, il était estimé que 700 000 personnes mourraient chaque année d'une infection par des bactéries multirésistantes. Sans plan d'action adapté et efficace, ce chiffre pourrait monter à 10 millions par an d'ici 2050 (O'Neill 2014).



La prévention et le traitement des mammites sont le premier poste d'utilisation d'antibiotiques dans la filière bovin lait (European Medicines Agency Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP) and EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) et al. 2017). Des principes actifs de la plupart des grandes familles antibiotiques peuvent être utilisés en formulation intra-mammaire ou parentérale dans ce cadre thérapeutique. Cependant, l'utilisation massive et parfois erronée des antibiotiques est un sujet d'inquiétude depuis maintenant plusieurs décennies : l'émergence d'antibiorésistances en santé humaine comme animale est un enjeu majeur de la médecine moderne. De nombreuses molécules antibiotiques utilisées chez les animaux de rente sont aussi des molécules d'intérêt en médecine humaine. A terme, le risque en santé humaine comme animale est l'augmentation des échecs thérapeutiques causés par des résistances bactériennes à l'arsenal antimicrobien dont nous disposons. De manière indirecte, la potentielle mise en contact de l'Homme avec des résidus antibiotiques dans le lait et la viande des bovins (entre autres) est à risque de sélection de bactéries résistantes.

Des études sont menées dans le monde entier depuis plusieurs décennies pour évaluer la proportion et l'évolution des résistances bactériennes aux antibiotiques. Des différences importantes existent bien entendu selon l'agent pathogène, l'antibiotique, l'espèce animale, le type d'infection, la zone géographique, l'effectif et la date considérés.

En ce qui concerne les agents pathogènes responsables de mammites, historiquement, plusieurs études ont montré entre la fin des années 1990 et le début des années 2000 une stabilité dans les résistances de *S. aureus* et *S. uberis* voire une amélioration vis-à-vis de certains antibiotiques (Erskine et al. 2002; Makovec, Ruegg 2003; Mackie et al. 1988). Cependant, en Finlande, l'étude de Myllys et al. de 1998 alerte sur la montée de l'antibiorésistance aux bêta-lactamines pour les staphylocoques (Myllys et al. 1998).

Plus récemment, en 2010, Unakal et Kaliwal découvrent des proportions alarmantes d'antibiorésistance parmi des souches de *Staphylococcus aureus* isolées de quartiers infectés dans une province d'Inde. Près de 87% des souches étaient résistantes à la pénicilline, 70,5% à l'ampicilline, 63,2% à l'amoxicilline et 47% à la gentamicine (Unakal, Kaliwal 2010). Gao et al. publient en 2019 les résultats d'une étude menée sur des bovins laitiers en Chine. Cette étude s'intéresse à *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *S. aureus* et aux espèces de staphylocoques non-*aureus*, avec plus d'une centaine d'échantillons de lait analysés pour chaque. Il en résulte au total que 27% des souches présentent une multirésistance (résistance à strictement plus de deux antibiotiques). En effet, 84% des staphylocoques non-*aureus* étaient résistants à l'oxacilline, 62% à la pénicilline, 34% à la tétracycline et 33% à la clindamycine ; 59% des streptocoques présentaient une résistance à la tétracycline. De plus, *E. coli* et *Klebsiella* spp. étaient respectivement pour 81% et 38% d'entre elles résistantes à l'association amoxicilline/acide clavulanique (Cheng et al. 2019). Une étude de grande ampleur publiée en 2023 par Langhorne et al. sur la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés de cas de mammites bovines en Australie révèle des résultats moins inquiétants. La sensibilité des souches de *S. aureus* aux bêta-lactamines reste très bonne (entre 87,7% et 100% selon les principes actifs) et 83,3% sont sensibles à l'érythromycine. Les souches de *S. uberis* présentent d'encore meilleures sensibilités excepté à l'érythromycine (seulement 75,9%). Concernant les coliformes, là encore la sensibilité des souches testées dépasse les 90% pour les céphalosporines de 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> génération, l'amoxicilline-acide clavulanique et l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole ; les résultats sont moins satisfaisants pour l'ampicilline et l'amoxicilline (seulement 67,6% de sensibilité) et la néomycine (78,3%) (Langhorne et al. 2023).

En France, les données du Resapath (Réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales) permettent depuis plusieurs décennies de suivre l'évolution des résistances aux antibiotiques en santé animale. Le Resapath fédère une centaine de laboratoires

français publics ou privés, adhérents volontaires, dans le but de surveiller les résistances aux antibiotiques de germes bactériens chez les animaux. Animé par deux laboratoires de l'Anses (Lyon et Ploufragan-Plouzané-Niort), ce réseau a initialement vu le jour en 1982 pour les bovins et s'est progressivement étendu à d'autres espèces animales. Le principe est la collecte des données d'antibiogrammes effectués par les laboratoires à partir de prélèvements recueillis sur le terrain par les vétérinaires praticiens : espèce animale, pathologie, souche bactérienne isolée et éventuelles résistances aux antibiotiques testés. La technique d'antibiogramme préconisé par le Résapath est celle référencée dans la norme AFNOR UF47-107 (méthode de diffusion en milieu gélosé). Les laboratoires sont appelés à suivre également les recommandations du Comité d'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM et CA-SFM Vétérinaire).

Au niveau européen, l'Agence nationale de sécurité sanitaire (Anses) coordonne depuis 2018 l'initiative EARS-Vet qui vise à développer un réseau européen de surveillance de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries pathogènes des animaux. Une phase pilote a été lancée en 2022 afin notamment d'évaluer les données disponibles à l'échelle européenne. Onze partenaires issus de neuf pays européens y ont participé et ont transmis leurs données pour la période 2016-2020 représentant un total de 140 110 souches bactériennes relatives à six espèces animales et onze espèces bactériennes (Igoho-Moradel 2023b).

Des antibiogrammes sont réalisés sur de nombreux échantillons provenant de pathologies et d'animaux divers. En ce qui concerne les mammites bovines, les données du Resapath disponibles à ce jour vont de 2006 à 2022 et intéressent principalement les pathogènes majeurs : *S. uberis*, *Staphylococcus* spp. et *E. coli*. Les antibiorésistances de *S. uberis* seront détaillées au paragraphe suivant, c'est pourquoi nous n'aborderons ici que celles des staphylocoques et d'*E. coli*.

Concernant les souches d'*E. coli* isolées de mammites bovines, par familles d'antibiotiques et en croisant les données du Resapath avec les principes actifs utilisés dans des préparations intra-mammaires disposant d'une AMM bovin laitier en lactation en France à ce jour :

- La résistance à l'amoxicilline seule est à la hausse (25,7% en 2006, 51% en 2022), moins flagrante lorsqu'associée à l'acide clavulanique (20,1% en 2006, 29,3% en 2022).
- La résistance à la colistine a chuté de 57% en 2006 à 8,1% en 2022.
- Les céphalosporines présentent des résistances qui varient selon leur génération mais relativement stables et en légère baisse : en 2006, 17,8% des souches d'*E. coli* à l'origine de mammites testées étaient résistantes à la céfalexine, elles sont 16,8% en 2022 ; les céphalosporines de 3<sup>e</sup> (céfopérazone) et 4<sup>e</sup> (cefquinome) générations présentent des résistances beaucoup plus faibles.
- Les aminosides elles aussi ont des efficacités variables sur *E. coli* : en seize ans, la résistance à la gentamicine n'a jamais dépassé 3% mais la streptomycine est toujours inefficace sur 24,4% des souches, contre cependant 36,7% en 2006. La kanamycine et la néomycine présentent des efficacités intermédiaires et malheureusement en baisse, avec près de 7% des souches d'*E. coli* résistantes en 2006, chiffre qui a presque doublé à 13,4% pour les deux molécules en 2022 (Resapath 2024a).

De la même manière, concernant les souches de staphylocoques coagulase-positifs (dont *S. aureus*) isolées de mammites bovines et dont la susceptibilité à divers antibiotiques a été testée entre 2006 et 2022, les résultats donnés par Resapath pour les principes actifs utilisés en routine dans des formulations intra-mammaires chez la vache laitière en lactation sont les suivants :

- La résistance à la pénicilline G est en nette baisse, passant de 36,6% en 2006 à 16,5% en 2022.

- Concernant les aminosides, là encore la streptomycine a une efficacité nettement diminuée par rapport aux autres molécules malgré une amélioration significative (17,6% de staphylocoques coagulase-positifs résistants en 2006, 6,9% en 2022). Pour la gentamicine, la kanamycine et la néomycine, les résistances n'ont quasiment jamais dépassé les 3% et se situent en 2022 au-dessous de 2%.
- Enfin, la résistance des staphylocoques coagulase-positifs à la lincomycine est très stable autour de 5% en moyenne (Resapath 2024b).

Enfin, concernant les SCN isolés après une mammite bovine, les résultats suivants sont donnés par le Resapath :

- Pour la pénicilline G, les staphylocoques coagulase-négatifs présentent de fortes résistances qui sont stables entre 24% en 2006 et 26,6% en 2022.
- On retrouve pour la famille des aminosides la même tendance que les autres agents pathogènes précédemment cités : la résistance à la streptomycine est la plus forte et en légère augmentation (18,1% en 2022 contre 15,1% en 2006), alors que l'efficacité de la gentamicine, kanamycine et néomycine sont très bonnes et globalement stables avec moins de 3% à 4% de résistances en 2022.
- En revanche, la résistance à la lincomycine a tendance à augmenter avec un passage de 13,7% en 2006 à 20,2% en 2022 (Resapath 2024c).

L'étude française de 2018 sur les données du Resapath entre 2006 et 2016 constatait une augmentation continue et alarmante de la proportion de résistances d'*E. coli* aux céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération, qui sont des antibiotiques critiques (Boireau et al. 2018). Au cours des dernières années ces taux de résistances se sont révélées stables voire à la baisse : les résistances à la céfopérazone passent de 3,5% en 2006 à 3% en 2022, quant à la cefquinome, en 2008, 1,9% des souches d'*E. coli* testées étaient résistantes contre 0,9% en 2022 (Resapath 2024a).

Les proportions de bactéries multirésistantes (présentant des résistances acquises à au moins un antibiotique parmi 3 classes différentes ou plus) entre 2006 et 2016 étaient de 3,6% pour les staphylocoques coagulase-positifs, 7,6% pour *E. coli* et 14,5% pour *S. uberis*. Ces chiffres sont extrêmement inquiétants ; cependant il existe un biais majeur : les échantillons envoyés pour analyse bactériologique et antibiogramme en laboratoire spécialisé par les vétérinaires praticiens ont de grandes chances d'être des cas récalcitrants, qui ne constituent qu'une minorité de l'ensemble des cas et n'en sont donc pas représentatifs. Mais comme ce biais se retrouve au fil des années, la tendance à l'augmentation des multirésistances que l'on constate est en revanche significative (Boireau et al. 2018).

En 2022, Madec publie un état des lieux des antibiorésistances animales en France. Concernant les bovins, toutes pathologies et âges confondus, les résistances de souches d'*E. coli* aux antibiotiques critiques (fluoroquinolones et céphalosporines de 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> générations) sont en nette diminution entre 2006 et 2020. Pour plusieurs antibiotiques non-critiques d'autres familles (tétracycline, amoxicilline-acide clavulanique, triméthoprime-sulfamides, streptomycine, gentamicine) évaluées sur le même temps et les mêmes souches bactériennes, les résistances sont stables ou en diminution (Madec 2022). Ces bons résultats sont explicables par la prise de conscience et la responsabilisation des acteurs de la filière bovine, à commencer par les vétérinaires qui prescrivent, délivrent et administrent fréquemment les antibiotiques. Cela ne signifie pas, bien au contraire, qu'il faille relâcher les efforts ; l'enjeu de préserver des molécules antibiotiques efficaces, en médecine humaine comme animale, est toujours aussi capital.

Le traitement des mammites en élevage bovin laitier est le premier poste d'utilisation d'antibiotiques de la filière au niveau mondial. Les données disponibles dans le monde au cours des dernières décennies concernant la sensibilité des bactéries issues de mammites bovines aux molécules antibiotiques sont extrêmement nombreuses, variées, parfois contradictoires. De manière générale, on ne peut ignorer malgré des variations selon les agents pathogènes et les zones géographiques que des résistances sévères et multiples sont identifiées régulièrement et constituent un sujet d'inquiétude et de recherche afin d'améliorer la situation. Lorsque des mesures sont prises pour faire respecter les bonnes pratiques d'utilisation des antibiotiques, il est possible d'observer des progrès parfois spectaculaires comme avec la pénicilline G sur les staphylocoques coagulase-positifs en France dans la dernière quinzaine d'années. Il est donc primordial de s'attacher à respecter une utilisation raisonnée et justifiée des antibiotiques, et de pousser la recherche scientifique dans le sens du développement de méthodes thérapeutiques alternatives efficaces.

#### v. Impact sur le bien-être animal et humain

Chez la vache laitière, les troubles de santé liés à la mamelle représentent 35% des affections (Bergonier 2023). Ce sont des phénomènes inflammatoires souvent douloureux et parfois à risque d'atteinte de l'état général des bovins. La prévention des mammites et leur traitement rapide et efficace revêt donc une importance capitale du point de vue du bien-être animal en élevage laitier, une considération qui n'a cessé de grandir au sein de l'opinion publique dans les dernières décennies et vis-à-vis de laquelle la profession vétérinaire a un grand rôle à jouer.

De plus, il s'agit pour les éleveurs laitiers de pathologies fréquentes, économiquement coûteuses, susceptibles de prendre des proportions graves (« flambées ») et qui demandent du temps et de l'énergie en termes de détection, traitement et suivi. Cela peut occasionner une inquiétude conséquente qui s'ajoute à un quotidien déjà difficile pour un certain nombre d'entre eux ; on sait que les agriculteurs présentent un taux de suicide supérieur de 30% à la moyenne de la population française, avec une surreprésentation des éleveurs bovins laitiers (Deffontaines 2017). Il est donc primordial pour les vétérinaires d'être capable d'aider au mieux en proposant des mesures préventives adaptées ainsi que des traitements qui allient de manière responsable efficacité ciblée, optimisation du temps passé et moindre coût économique.

#### II. Focus sur les mammites à *Streptococcus uberis*

*Streptococcus uberis* est une bactérie responsable d'un grand nombre de mammites partout dans le monde. Il s'agit de l'agent pathogène le plus isolé dans les pays occidentaux (Bergonier 2022e). En France, cette espèce est en cause dans 30 à 40 % des cas de mammites cliniques et dans 20 à 25 % des mammites subcliniques dues à des pathogènes majeurs (Sérieys 2003). En 2016, Salat identifie *S. uberis* sur 34,1% des mammites non sévères et 23% des mammites subcliniques dans sa clientèle du Cantal (Salat 2017). Les mammites occasionnées sont parfois difficiles à traiter, avec des échecs thérapeutiques et des récurrences relativement fréquents (Zadoks et al. 2003).

## A. La bactérie *Streptococcus uberis*

### i. Carte d'identité

*Streptococcus uberis* est une espèce bactérienne de l'ordre des *Lactobacillales*, appartenant à la famille des *Streptococcaceae* et au genre *Streptococcus*. Les streptocoques sont des bactéries de type coques à Gram positif, catalase-négatifs, esculine-positifs, coagulase-négatifs et non- $\gamma$ -hémolytiques de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  présentant un groupement typique en diplocoques ou en chaînettes de longueur variable, immobiles, non-sporulés et rarement capsulés. Il s'agit de germes ubiquitaires aéro-anaérobie facultatifs, mésophiles (optimum de température à 37°C) et neutrophiles (pH optimal autour de 7, mauvaise tolérance des pH acides). *S. uberis* possède un réservoir mixte, à la fois environnemental et en portage sain par les animaux, notamment sur la peau, dans le rumen, au niveau du tractus uro-génital, dans les fécès, la litière et les pâtures (Bramley 1982; Kruze, Bramley 1982; Zadoks, Tikofsky, Boor 2005; Wentz et al. 2019). Il est principalement connu pour son rôle pathogène dans les mammites bovines (son nom provient d'ailleurs du latin *uber, uberis* : mamelle). Les techniques de biologie moléculaire et d'identification génotypique des différentes souches ont mis en évidence depuis longtemps une grande diversité de profils au sein de cette espèce (Jayarao et al. 1991) ; cependant, au sein d'un élevage, il existe généralement une souche prédominante (Zadoks et al. 2003).

### ii. Facteurs de virulence

La survenue d'une mammite dépend de plusieurs paramètres parmi lesquels les capacités de la bactérie à éviter l'élimination par les agents de l'immunité, à survivre et se multiplier sont primordiales. Un certain nombre de mécanismes de contournement du système immunitaire et d'adaptation aux ressources présentes dans la mamelle ont été mises en évidence chez *S. uberis* (Oliver, Almeida, Calvino 1998).

Plusieurs facteurs de virulence de *Streptococcus uberis* sont connus. Un facteur de virulence est une substance produite par la bactérie, qui influence sa survie et sa pathogénicité. Il peut s'agir de molécules permettant l'évitement du système immunitaire, l'adhérence et l'invasion des cellules épithéliales ou encore la croissance rapide de la bactérie notamment (Oliver, Almeida, Calvino 1998).

*Streptococcus uberis* est parfois encore vu comme un agent pathogène strictement extracellulaire, libre dans le lait. Ce n'est pourtant pas le cas. Thomas montre en 1994 qu'après infection, *S. uberis* est retrouvé à plusieurs endroits de la mamelle : dans les macrophages, dans la lumière alvéolaires, adhérents à des cellules épithéliales endommagées ou non, infiltrant les tissus septaux, et jusqu'aux vaisseaux et nœuds lymphatiques (Thomas et al. 1994).

L'adhérence de *S. uberis* aux cellules épithéliales mammaires est étudiée depuis plus de 30 ans (Almeida et al. 1996; Matthews, Almeida, Oliver 1994). En 2015, Almeida et al. identifient chez *S. uberis* une molécule d'adhésion de surface (SUAM), affine pour la lactoferrine, et prouvent son implication dans le processus d'adhérence et d'internalisation de la bactérie au sein des cellules épithéliales mammaires. Un mutant délété du gène codant pour la protéine SUAM présente de moins bonnes aptitudes à la colonisation et à l'infection mammaire, et déclenche des signes cliniques moindres par rapport à la souche sauvage (Almeida et al. 2015).

Au cours des années 1990 et 2000, des protéines de surface de *S. uberis* capables de se lier aux composants de la matrice extracellulaire tels que la fibronectine, le collagène et la laminine ainsi qu'à des protéines du lait ont été mises en évidence. Ces protéines auraient également un lien avec l'adhésion de la bactérie aux cellules-hôtes (Almeida et al. 2015; Almeida, Oliver 2006; Patel et al. 2009; Fang, Almeida, Oliver 2000; Patti et al. 1994; Fessia, Odierno 2021).

L'internalisation de *S. uberis* au sein des cellules épithéliales a été étudiée *in vitro* et se fait de manière temps-dépendante. Il apparaît que les microfilaments sont nécessaires pour l'internalisation de ces bactéries, mais pas les microtubules. La microscopie électronique a permis de mettre en évidence le comportement des bactéries après pénétration dans la cellule. Matthews et al. rapportent qu'après 8 heures, la plupart des bactéries existent au sein de vacuoles, possiblement coalescentes ou permettant la réplication puisqu'elles contiennent plusieurs cellules bactériennes. En revanche, à 24 heures, les bactéries sont majoritairement libres dans le cytoplasme et s'y répliquent. A ce stade-là, les cellules épithéliales ne présentent aucune dégénérescence (Matthews, Almeida, Oliver 1994; Almeida et al. 2007).

La présence des bactéries à l'intérieur des cellules les protège de l'élimination dans le lait lors de la traite, et de nombreux composants du système immunitaire : polynucléaires neutrophiles, macrophages, anticorps et facteurs antimicrobiens (Almeida et al. 2007).

En 1980, Skalka et Smola mettent en évidence le « UBERIS-factor », une exosubstance produite par *Streptococcus uberis* létale quand administrée par voie intraveineuse à des lapins et des souris (Skalka, Smola 1981).

La présence d'une capsule d'acide hyaluronique quant à elle participe largement à protéger les bactéries de la phagocytose par les macrophages (Wessels et al. 1991; Almeida, Oliver 1993a). Toutes les souches ne synthétisent cependant pas de capsule ; Matthews et al. rapportent dans leur étude que seulement 44% des souches de *S. uberis* issues de mammites bovines sont encapsulées (Almeida, Oliver 1993b; Matthews, Jayarao, et al. 1994). De plus, certaines souches paraissent produire des capsules moins efficaces que d'autres en termes de résistance à la phagocytose ; les plus résistantes sont également celles qui causent le plus de mammites cliniques (Leigh, Field, Williams 1990).

En plus de l'acide hyaluronique, il a été mis en évidence que l'hyaluronidase inhibe la prolifération des cellules épithéliales mammaires *in vitro* (Matthews, Rejman, et al. 1994). La hyaluronidase est une enzyme capable de dépolymériser l'acide hyaluronique, lui-même composant essentiel du tissu connectif. Elle est produite par toutes les souches de *S. uberis* et participe vraisemblablement à la dissémination des bactéries dans le tissu mammaire (Schaufuss et al. 1989).

Une ressource essentielle à la multiplication des bactéries dans la mamelle est l'accès à des acides aminés libres, source principale d'azote. Il a été prouvé que *S. uberis* possède une enzyme appelée streptokinase, également présente chez d'autres streptocoques, permettant d'hydrolyser le plasminogène du sérum en plasmine (Leigh 1993). La plasmine est une peptidase qui permet notamment d'hydrolyser les caséines du lait et donne ainsi accès à une source d'azote pour la bactérie. Le fait que *S. uberis* possède sa propre streptokinase le rend indépendant des enzymes caséolytiques extracellulaires. De plus, le gène *oppF* de *S. uberis* est également reconnu comme impliqué dans l'acquisition d'acides aminés tels que la méthionine (Smith et al. 2002).

Les protéines M-like et R-like de *S. uberis* sont également des facteurs de virulence identifiés de longue date. Elles ont toutes les deux des capacités anti-phagocytaires ; de plus, la protéine

M-like participe également à l'invasion des cellules épithéliales par la bactérie (Almeida et al. 1996; Groschup, Timoney 1993; Fischetti 1989; Oliver, Almeida, Calvino 1998).

Plus récemment, la formation de biofilms par *S. uberis* a été prouvée. L'activité protéolytique extracellulaire de la bactérie permet la dégradation des caséines  $\alpha$  et  $\beta$  du lait, qui induit fortement la formation de biofilm. Dans l'étude citée, seulement deux des dix souches étudiées ont produit *in vitro* un biofilm. Il s'agit d'un facteur de résistance majeur au système immunitaire puisque la communauté microbienne est ainsi protégée au sein d'une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, de protéines ou d'ADN extracellulaire (Varhimo et al. 2011). Chez *S. uberis*, le métabolisme des sucres, la transcription d'un gène codant pour une protéine se liant à la lactoferrine, le transport de la glutamine et les interactions d'adhérence ont été mis en évidence comme processus importants dans la croissance du biofilm (Crowley et al. 2011). La proportion de souches de *S. uberis* formatrices de biofilms pourrait être plus importante que suggéré par Varhimo et al. ; elle est de 69,1% des souches étudiées par Ocak et al. en 2024. De plus, cette dernière étude prouve la corrélation entre la capacité des isolats à former un biofilm et l'augmentation de la multi-résistance aux antibiotiques (Ocak, Turkyilmaz, Turkyilmaz 2024). Cependant, les études sur le développement de biofilms *in vitro* dans les mamelles sont encore trop rares. Il reste beaucoup à comprendre sur ce facteur de virulence dont l'importance chez de nombreuses espèces pathogènes bactériennes est pressentie comme très grande (Jørgensen et al. 2021).

Les progrès de la PCR ont permis de mettre en évidence chez *S. uberis* comme chez de nombreuses autres espèces bactériennes des gènes de résistance aux antibiotiques tels que *tetM*, *blaZ* et *ermB* (résistance respectivement à la tétracycline, à la pénicilline et à l'érythromycine). Dans une étude en Chine, près de 60% des souches étudiées présentent également entre 4 et 7 gènes recherchés associés à des facteurs de virulence (Zhang et al. 2020). Une étude similaire menée en République Tchèque donne des conclusions semblables : toutes les souches testées possèdent au moins 4 des 10 gènes de virulence recherchés et la plupart en possèdent au moins 8 sur 10. Les gènes presque systématiquement retrouvés codent pour l'acide hyaluronique (*hasA*, *hasB*), une protéine déhydrogénase de surface (*gapC*), un facteur impliqué dans l'invasion des cellules épithéliales (*sua*), des activateurs de plasminogène (*skc*, *pauA*) et des protéines impliquées dans l'acquisition d'acides aminés (*oppF*) (Zouharova et al. 2022).

Tous ces facteurs de virulence font de *Streptococcus uberis* un agent pathogène potentiellement persistant dans la mamelle ; ils expliquent les difficultés du système immunitaire à le combattre et la nécessité d'un antibiotique particulièrement adapté pour atteindre ses localisations intracellulaires.

## B. Principales méthodes d'identification à partir du lait

A partir d'un prélèvement de lait, il est possible de réaliser une culture bactérienne et une identification bactériologique de *S. uberis*. Certains isolats présentent des profils biochimiques qui s'écartent plus ou moins de la normale et peuvent rendre leur inclusion dans l'espèce incertaine. Le sérogroupage sur la base d'antigènes polysaccharidiques (groupes de Lancefield) ne permet pas de caractériser *S. uberis* (Sérieys 2003; Groschup, Hahn, Timoney 1991).

Il s'avère que *S. uberis* est difficilement différenciable en routine de *Streptococcus parauberis*, responsable lui aussi de mammites mais dont la fréquence est bien moins importante que celle de *S. uberis* (Mevius, Pellicaan, Pelt 2005; McDonald, Fry, Deighton 2005; Pitkälä, Koort,

Björkroth 2008; Khan et al. 2003; Zouharova et al. 2022). Il est estimé que *S. parauberis* est impliqué dans environ 0,5% des mammites, ce qui fait de lui un agent pathogène très mineur (Kabelitz et al. 2021).

En effet, l'espèce *Streptococcus parauberis* a été longtemps classée comme *Streptococcus uberis* sous-type II, mais la mise en évidence de différences importantes dans la séquence de l'ARN ribosomique 16S (Williams, Collins 1990) a finalement conduit à la classer comme une espèce à part. Les deux espèces ne peuvent pratiquement pas être distinguées par leur morphologie en culture ni par leurs propriétés biochimiques (Facklam 2002). Les seules différences notables dans les techniques de microbiologie conventionnelle sont la capacité de *Streptococcus parauberis* à pousser à une température de 10°C, ce dont *S. uberis* est incapable (Groschup, Hahn, Timoney 1991), et la production par *S. uberis* de  $\beta$ -D-glucuronidase. Cependant, la différenciation par PCR des deux espèces donne de très bons résultats (Hassan et al. 2001).

Les caractéristiques des mammites à *S. parauberis* et les profils d'antibio-susceptibilité des souches de cette espèce sont proches de ceux de *S. uberis* (Pitkälä, Koort, Björkroth 2008). Sur le plan génétique, plusieurs études récentes montrent que les souches de *S. parauberis* semblent posséder moins fréquemment que *S. uberis* les principaux gènes associés à la virulence et à l'antibiorésistance (Zhang et al. 2020; Zouharova et al. 2022). Pour ces raisons, la différenciation des deux espèces n'est pas considérée nécessaire (Pitkälä, Koort, Björkroth 2008; Kabelitz et al. 2021).

Il existe de nombreux tests d'identification bactérienne à destination des éleveurs qui sont, pour beaucoup, relativement simples (dichotomie Gram - / Gram + ou identification spécifique d'un seul pathogène). Nous détaillerons ici les méthodes de laboratoire ou à destination des vétérinaires ainsi que la manière dont elles permettent d'aboutir à l'identification de *Streptococcus uberis*.

Les méthodes disponibles sont pour beaucoup développées pour des mammites cliniques et testées sur des laits calibrés, inoculés avec une grande quantité de bactéries, ce qui ne correspond pas toujours à la réalité du terrain. Elles présentent toutes des avantages et des inconvénients.

#### i. Culture sur milieu gélosé et tests biochimiques

Divers types de géloses existent pour identifier *Streptococcus uberis* avec des niveaux de précision différents. La méthode standard de laboratoire est la culture de lait sur gélose au sang et esculine. La culture sur gélose est généralement associée à des tests biochimiques, à l'utilisation de galeries API (Appareils et Procédés d'Identification) ou au profilage enzymatique (National Mastitis Council 1999).

Sur gélose au sang, l'ensemble des espèces du genre *Streptococcus* forment de petites colonies convexes. Des caractères métaboliques plus spécifiques permettent de distinguer *S. uberis* des autres espèces de streptocoques. Parmi ceux-ci, certaines réactions biochimiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la fermentation de l'inuline, l'absence de fermentation du raffinose et l'hydrolyse de l'arginine apparaissent comme les plus discriminantes. Les autres réactions caractéristiques sont la fermentation du sorbitol, du mannitol et du tréhalose. La plupart des



souches de *S. uberis* sont non hémolytiques ou donnent une légère hémolyse de couleur verte (hémolyse dite de type alpha) (Roguinsky 1971). Cependant, l'identification à partir de géloses au sang associées à l'utilisation de galeries API n'identifieraient correctement que 80% des souches de *S. uberis* (Poutrel, Ryniewicz 1984). Les laboratoires recourent aujourd'hui généralement à l'identification par spectrométrie de masse (MALDI-TOF).

Concernant les méthodes réalisables en ferme, ces dernières années ont vu le développement de tests rapides d'identification bactérienne plus ou moins simplistes (plusieurs s'arrêtent à la différenciation Gram + / Gram -), qui consistent en l'ensemencement de boîtes de Pétri uniques organisées en plusieurs compartiments (2 milieux gélosés différents : biplate, 3 milieux : triplate, ou 4 milieux : quadriplate). L'identification du pathogène est permise par la pousse sélective sur un compartiment donné et par la couleur des colonies. Différents tests rapides existent pour l'identification de *S. uberis* ou *Streptococcus* spp (Accumast® de FERA, Colorex Vet ID d'EliTECHGroup, Vetorapid® de Vetoquinol). Cependant, ces techniques sont d'une précision variable en ce qui concerne l'identification d'espèce, quand elles ne s'arrêtent pas simplement à l'identification de groupe, et ne permettent donc pas d'identifier avec certitude *Streptococcus uberis* (Poutrel 2019).

Dans les cabinets et cliniques vétérinaires, différentes méthodes d'identification bactériologique sur gélose sont réalisables. Ce paragraphe évoque les plus courantes mais n'a pas vocation à les lister toutes de manière exhaustive.

En 2005, Schmitt-Van de Leemput et Schmitt-Beurrier mettent au point un protocole en trois étapes réalisable en clinique vétérinaire. Le prélèvement est d'abord ensemencé sur trois géloses : une gélose au sang de mouton (COS) qui permet la croissance de toutes les bactéries, une gélose au sang contenant de l'acide nalidixique et de la colistine (CNA) qui inhibe la croissance des bactéries à Gram négatif, et une gélose au bromocrésol pourpre (BCP) qui permet la croissance de tous les germes à Gram négatif et certains à Gram positif avec une coloration différentielle selon la fermentation du lactose. Les résultats sont interprétés après 12 à 24 heures d'incubation à 37°C. Une fois les colonies Gram positives repérées, un test très rapide consistant à dissocier une colonie dans une goutte d'eau oxygénée permet de rechercher l'éventuelle présence de catalase, caractéristique des staphylocoques ou corynébactéries mais absente dans le cas de *S. uberis*. Enfin, la culture de quelques colonies sur un milieu de Kligler contenant de l'esculine et du citrate ferrique permet la mise en évidence de la présence d'une esculinase synthétisée par *S. uberis*. En effet, *S. uberis* synthétise une esculinase capable de dégrader l'esculine en dextrose et esculetine. Cette dernière réagit ensuite avec le citrate ferrique en formant un noircissement du milieu observable dans les 2 heures et permettant l'identification finale de *Streptococcus uberis* (Schmitt-Van de Leemput, Schmitt-Beurrier 2005).

Cette méthode connaît de nombreuses variantes telles que l'ensemencement, lors de la première étape, de géloses COS, CNA et Hektoen au lieu de BCP, cette dernière étant spécifique des entérobactéries (Salat 2017).

Bien que largement majoritaire en terme de prévalence, *Streptococcus uberis* n'est pas la seule bactérie à Gram positif, catalase-négative et esculine-positive retrouvée dans le lait de mamme. Bien que les isolats possédant ces caractéristiques soient habituellement considérés comme *Streptococcus uberis*, il s'avère en réalité que d'autres espèces peuvent correspondre à cette description. Les autres agents pathogènes ainsi identifiables sont notamment des entérocoques, des streptocoques du groupe D ainsi qu'*Aerococcus viridans* et *Lactococcus garvieae* (Devriese et al. 1999; Fortin et al. 2003; Schabauer, Titz, Ehling-Schulz 2014).

Des doutes existent cependant sur le pouvoir pathogène primaire de certaines de ces bactéries, notamment *A. viridans* ainsi que les lactocoques, qui sont pour le moment considérés comme des agents pathogènes très mineurs (Wyder et al. 2011; Devriese et al. 1999) bien que quelques études récentes les caractérisent tout de même comme agents pathogènes émergents à surveiller (Lin et al. 2023; Sun et al. 2017).

L'implication des entérocoques dans les mammites bovines est quant à elle établie et toujours d'actualité (Kim et al. 2022; Rodrigues et al. 2022). De plus, de très nombreuses souches d'*Enterococcus* spp. sont résistantes aux pénicillines contrairement à la majorité des souches de *Streptococcus uberis* ce qui rend leur différenciation nécessaire dans un but thérapeutique.

Une gélose DCO (D-Coccosel) spécifique des entérocoques et de certains streptocoques du groupe D est donc ensemencée. Cette gélose comporte de la bile, en présence de laquelle les seules bactéries à Gram positif, catalase négatives et esculine positives capable de pousser sont les entérocoques, *Lactococcus garvieae* et certains streptocoques du groupe D (Chuard, Reller 1998; Swan 1954; Meyburgh, Bragg, Boucher 2017). *Streptococcus uberis* n'est pas un streptocoque du groupe D ; sa croissance est inhibée par la présence de bile dans le milieu. On n'observe donc pas de pousse de *S. uberis* (gélose qui reste d'apparence intacte) tandis que l'on constate un noircissement du milieu en quelques heures d'incubation à 37°C en présence d'entérocoques ou de streptocoques du groupe D.

Pour finir, l'identification bactérienne d'un agent pathogène responsable de mammite par la méthode des géloses présente une sensibilité et une spécificité de 91% et 93%, respectivement (Toft et al. 2019). Il est cependant primordial de noter que l'interprétation dépend fortement de l'expérience de l'opérateur, ce qui peut en altérer de manière non négligeable la sensibilité et la spécificité (Salat 2024).

Une bactériologie sur géloses réalisée en clinique vétérinaire est souvent facturée autour d'une vingtaine d'euros hors taxes (HT) à l'éleveur et donne un résultat en 24 heures à 48 heures selon les méthodes.

## ii. Spectrométrie de masse

Certains laboratoires proposent l'identification par spectrométrie de masse (MALDI-TOF) de colonies bactériennes préalablement isolées. Cette technique représente le « gold standard », permettant d'identifier avec d'excellentes sensibilité et spécificité la bactérie impliquée. Cette technologie permet d'établir un spectre des protéines ribosomales de la bactérie en fonction de leur « temps de vol » (TOF signifiant *Time of Flight*), extrêmement spécifique. En pratique, les cliniques vétérinaires qui effectuent en routine des identifications et isolements bactériens sur géloses n'y ont recours que pour préciser un résultat douteux car c'est un surcoût (entre 25 et 30€ HT par exemple pour le laboratoire public Laboceva en 2024, communication personnelle) et nécessite l'isolement de la bactérie puis l'envoi au laboratoire, donc un délai supplémentaire. Il s'agit cependant de la méthode de référence puisque la sensibilité et la spécificité de ce test sont très proches de 100% pour l'ensemble des espèces bactériennes impliquées dans les mammites (Salat 2024).

### iii. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) en laboratoire

La technique de PCR (*Polymerase Chain Reaction* ou Réaction de Polymérisation en Chaîne en français) est une méthode de biologie moléculaire qui repose sur l'amplification, par enzymes ADN-polymérases, d'une portion d'ADN recherché. Elle repose sur l'extraction de l'ADN du prélèvement, auquel on ajoute des couples d'amorces (oligonucléotides de synthèse) spécifiques de certains gènes de la bactérie recherchée et d'une ADN-polymérase thermophile, souvent issue de *Thermophilus aquaticus*. S'ensuivent plusieurs cycles de polymérisation dans un thermocycleur, amplifiant ainsi l'ADN de la cible s'il est présent. La technique est fiable mais demande du temps de préparation ainsi qu'un matériel spécifique et des réactifs parfois coûteux. Une fois l'analyse lancée, les résultats sont néanmoins obtenus très rapidement, de l'ordre de l'heure et demie.

L'utilisation de la PCR sur lait n'est pas récente. En 2005, les excellentes sensibilité et spécificité (95,5% et 99,6%) d'une méthode de PCR multiplexe en temps réel identifiant *S. uberis*, *S. dysgalactiae* et *S. aureus* sont démontrées (Gillespie, Oliver 2005). Sherwin et al. ont démontré en 2020 l'efficacité de la détection par PCR sur lait du génome de *S. uberis* à des concentrations inférieures à celles associées à la survenue de mammites cliniques grâce à l'utilisation de portions de gènes très conservées (Sherwin et al. 2020). Néanmoins, les essais menés sur l'identification par PCR de *S. uberis* à l'aide d'un analyseur du commerce (PathoProof®, ThermoScientific, Vantaa, Finlande) avaient montré des résultats mitigés et une moins bonne détection en début de lactation, même si le coefficient kappa par rapport à la culture bactérienne reste très bon à 0,74 (Steele et al. 2017). Si elle peut présenter l'avantage de la rapidité, l'utilisation de la PCR sur lait pour l'identification bactériologique est relativement coûteuse pour une recherche large en première intention et sera plus fréquemment utilisée pour la recherche d'un agent pathogène précis. A titre d'exemple, en France en 2024 le laboratoire vétérinaire LDV55 Segilab dans la Meuse facture 20,11€ (HT) par agent pathogène recherché en PCR, à multiplier par le nombre d'agents recherchés qui peut être important si l'on veut couvrir le maximum de possibilités.

En comparaison avec la culture sur géloses, la méthode PathoProof® a une sensibilité de 86,8% et une spécificité de 87,7% pour la détection de *S. uberis* (coefficient kappa de 0,74) et de 96,4% et 99,7%, respectivement, pour la détection de *S. aureus* (coefficient kappa de 0,96) (Steele et al. 2017). La technique de PCR est intéressante pour détecter des bactéries en moindre quantité que sur gélose, ce qui peut s'avérer pertinent notamment sur les mammites subcliniques et pour l'établissement d'un profil d'élevage (Schmitt-Van De Leemput 2013).

Néanmoins, un thermocycleur coûte plusieurs dizaines de milliers d'euros et n'est donc accessible que pour les laboratoires d'analyse. De récentes avancées concernant la mise au point de PCR dites « froides » pourraient tout de même permettre d'envisager un avenir pour cette technique en cabinet vétérinaire.

#### iv. Analyseurs portables en clinique vétérinaire

##### 1. Mastatest®

Le laboratoire Vetoquinol a commercialisé en 2023 un analyseur appelé Mastatest® qui permet l'identification des principaux agents pathogènes responsables de mammites, directement dans le lait, en 24 heures maximum. L'analyseur identifie le ou les agent(s) pathogène(s) parmi : *E. coli* et « autres Gram négatives », *Klebsiella* spp. et *Serratia* spp., *Staphylococcus aureus*, SCN, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* et autres streptocoques, ainsi que « autres Gram positives ». L'analyseur est également capable d'effectuer un antibiogramme et de donner une évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour trois antibiotiques : cloxacilline, benzylpénicilline et tylosine. Ce n'est pas une technique d'antibiogramme reconnue car l'inoculum bactérien n'est pas calibré, cependant la comparaison avec des méthodes reconnues donne d'excellentes concordances avec les résultats obtenus par le Mastatest® (Jones et al. 2019).

Jusqu'à 4 prélèvements peuvent être analysés en même temps. La délivrance du résultat nécessite une connexion internet.

Un même prélèvement de lait est réparti dans 24 puits dont 6 servent à l'identification bactérienne et 18 à la détermination des CMI des trois antibiotiques. En ce qui concerne l'identification bactérienne, elle repose sur une analyse colorimétrique car chaque puits contient un indicateur coloré.

Le brevet #10829796 déposé aux Etats-Unis (Justia Patents, 2016) détaille les milieux utilisés dans le Mastatest® pour identifier les espèces bactériennes dont *Streptococcus uberis* (Bork 2020). Le puits dédié à l'identification de *S. uberis* contient de l'esculine, que la bactérie synthétisant de l'esculinase est capable de dégrader en esculetine et dextrose, et du citrate ferrique avec lequel l'esculetine réagit ensuite. Cette seconde réaction engendre un noircissement du milieu de culture, détectable par l'analyseur.

Une étude comparative de plusieurs tests pour la détection des bactéries Gram positives à l'origine de mammites donne des performances mitigées pour le Mastatest® par rapport à l'identification en spectrométrie de masse, la méthode de référence. La sensibilité du Mastatest® est de 55% et sa spécificité 81% dans cette étude (Zadoks et al. 2023).

Une étude comparative des résultats obtenus avec le Mastatest® et la méthode des trois géloses précédemment décrite a été réalisée sur 199 échantillons de lait collectés au sein de la clientèle de la clinique vétérinaire de Saint-Flour dans le Cantal (15). Les résultats mettent en évidence une correspondance de 73% entre l'analyseur et les géloses en ce qui concerne *Streptococcus uberis*. Il est cependant préconisé que le résultat soit interprété par un vétérinaire pour en vérifier la vraisemblance.

En France, l'appareil coûte environ 2000€ à l'achat, et les consommables 8 à 10€ pour chaque analyse (Salat 2024).

## 2. MastiSensor®

Le laboratoire UniSensor développe en 2024, un analyseur portable, MastiSensor®, permettant d'identifier par une technique proche de la PCR plusieurs agents pathogènes majeurs : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.*, et des bactéries caractérisées comme « autres Gram positives ». De plus, cet outil est capable de détecter le gène *blaZ*, codant une bêta-lactamase très fréquemment impliquée dans les résistances aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines.

Cet analyseur utilise la technologie LAMP (*Loop-mediated isothermal Amplification*) qui, à la différence de la PCR, permet une amplification isotherme lente de l'ADN et ne nécessite donc pas de thermocycleur, matériel dont le prix est un frein majeur (cf. paragraphe ci-dessus).

Les inconvénients de cette méthode restent le prix (3500€ HT pour l'analyseur, puis 27€ HT par test) et le temps de préparation de la matrice à analyser, qui est d'environ 30 minutes de disponibilité à la clinique pour un opérateur expérimenté.

La sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positive et négative de ce test sont excellentes, autour de 96% (Cornelissen et al. 2016; Mater 2024).

L'analyseur est actuellement en passe d'être commercialisé, aucune donnée relative à son utilisation sur le terrain n'est donc disponible.

### C. Caractéristiques des mammites à *Streptococcus uberis*

#### i. Expression clinique

L'expression clinique des mammites associées à *Streptococcus uberis* est particulièrement variable, allant de la mammite subclinique sans autre signe qu'une augmentation du comptage cellulaire à la mammite sévère affectant l'état général de la vache dans de plus rares cas (Salat et al. 2023). De plus, la durée des infections est également variable et peut être aussi bien transitoire que chronique (StRose et al. 2003; Wyder et al. 2011; Todhunter, Smith, Hogan 1995). La durée moyenne d'une infection à *Streptococcus uberis* a été estimée par plusieurs études dans différents endroits du monde. En 2004, McDougall et al. estiment cette durée moyenne à 31 jours et médiane à 16 jours en Nouvelle-Zélande. Des travaux précédents menés dans l'hémisphère Nord situaient cette durée entre 20 jours et jusqu'à 9 mois (Watt 1999; Lam 1996; Zadoks et al. 2001; McDougall et al. 2004).

La parité, le stade de lactation, la pratique d'un post-trempage et le type de traitements réalisés influent sur l'expression clinique des mammites à *S. uberis* (Samson, Schmitt, Gaudout, Cousin, et al. 2016). L'historique inflammatoire (comptages cellulaires) rendant compte d'une infection récente ou chronique influe sur les chances de guérison, les mammites chroniques étant plus difficiles à traiter (Samson, Schmitt, Gaudout, Cousin, et al. 2016).

En France, *S. uberis* serait impliqué en moyenne dans 17% des mammites aiguës, 25% des mammites cliniques non sévères et 17% des mammites subcliniques (Poutrel 2015).

On observe des tendances dans les mammites à *S. uberis* : elles sont plus fréquemment retrouvées en lactation, même si près de 50% des mammites cliniques auraient pour origine une infection en période sèche (Bradley 2002), et plutôt sur des mammites cliniques non sévères que sur des mammites subcliniques. Ces constats peuvent cependant varier selon les zones : en Finlande, Heikkilä et al. constatent que parmi les mammites à *S. uberis*, 27% seulement sont cliniques (Heikkilä et al. 2018) tandis que selon Bradley, *S. uberis* est la deuxième bactérie à l'origine de mammites cliniques derrière *E. coli* (Bradley 2002). La prévalence et la sévérité des infections semblent dépendre du stade et du rang de lactation plutôt que de caractéristiques liées à la bactérie. En effet, il a été mis en évidence que la majorité des mammites à *S. uberis* survenant pendant le tarissement sont subcliniques, tandis qu'en post-partum elles sont fréquemment cliniques. En outre, 41% des infections à *S. uberis* surviennent en première lactation. 57% des mammites en lactation ont lieu à au moins 30 jours post-vêlage (Lundberg et al. 2016). La durée des infections subcliniques est plus longue chez les vaches que chez les génisses (McDougall et al. 2004).

## ii. Influence des facteurs de virulence

Selon les connaissances actuelles du processus de contamination de la mamelle, l'étape initiale est la colonisation de la peau du trayon par différentes souches de *S. uberis*, suivie par la sélection d'une seule souche – pas toujours la même – qui pénètre et se multiplie dans la mamelle (Pryor et al. 2009). Plusieurs hypothèses, dont aucune n'est à ce jour validée, sont avancées pour expliquer cette sélection entre souches : capacité d'adhésion, croissance plus rapide, ou encore présence d'une capsule permettant d'échapper aux mécanismes de défense en sont quelques-unes.

Comme détaillé précédemment dans ce travail, *Streptococcus uberis* est capable de former des micro-abcès encapsulés au sein de zones fibrosées de la mamelle dès 6 jours après l'infection, ce qui diminue nettement les chances de guérison bactériologique par rapport à d'autres étiologies de mammites (Thomas et al. 1994). De nombreuses souches de *S. uberis* sont productrices de biofilm (Ocak, Turkyilmaz, Turkyilmaz 2024). La dégradation de protéines du lait ( $\alpha$ - et  $\beta$ -caséines) a été mise en évidence lors de la formation du biofilm (Schönborn et al. 2017; Crowley et al. 2011; Varhimo et al. 2011). *Streptococcus uberis* est également capable d'envahir les cellules épithéliales mammaires (Almeida et al. 1996). Il a été mis en évidence que la protéine connue sous le nom de Surface Adhesion Molecule (SUAM) exprimée par *S. uberis* joue un rôle majeur dans l'adhésion et l'internalisation par les cellules épithéliales mammaires et même dans la virulence de l'infection (Almeida et al. 2015). La capacité de *S. uberis* à résister à la phagocytose (Thomas et al. 1994) et à la destruction intracellulaire par les leucocytes (Leigh, Field, Williams 1990) favorise également la chronicité des mammites. En effet, cette bactérie est capable de se fixer sur les bordures lésées des canaux galactophores ou des acini mammaires, et d'être internalisée au sein de vacuoles dans les cellules épithéliales ce qui la protège des défenses naturelles de la mamelle (Rémy 2010). Environ 80 % des souches possèdent une capsule constituée de N-acetyl glucosamine et d'acide glucuronique qui leur confère une activité antiphagocytaire *in vitro*, même si les résultats sont contradictoires concernant son implication dans la capacité d'infection et la sévérité clinique (Poutrel 2019). L'existence de ces différents facteurs de virulence explique la potentielle persistance de *S. uberis* dans la mamelle et le passage à la chronicité de nombreux cas.

### iii. Modèle épidémiologique : un réservoir mixte

En 2020, Leelahapongsathon et al. analysent sur le plan épidémiologique et moléculaire les souches de *S. uberis* responsables de mammites dans un élevage laitier en Thaïlande. Dans leur étude, la durée moyenne d'une infection à *S. uberis* était de  $2,2 \pm 0,42$  mois. Les souches qui ne sont pas retrouvées sur plusieurs vaches sont considérées comme provenant d'un réservoir environnemental et ont plus de chances de causer une infection brève à guérison spontanée. *A contrario* les souches retrouvées sur plusieurs vaches sont considérées comme contagieuses et il est difficile de donner une grande tendance sur les modalités de guérison et la persistance des infections, qui sont très variables (Leelahapongsathon et al. 2020). Les résultats de cette étude sont en accord avec des travaux précédents qui concluent que la persistance de l'infection mammaire à *S. uberis* est variable et dépend plus probablement du statut et de la réponse immunitaires de chaque vache que de facteurs intrinsèques aux différentes souches bactériennes.

L'étude menée par Abureema et al. publiée en 2014 conclut également que les souches de *S. uberis* responsables de mammites peuvent provenir d'un réservoir environnemental comme d'une transmission directe de vache à vache, conclusion partagée notamment par Wente et al. (2019). Cependant, la grande hétérogénéité des souches retrouvées lors de mammites cliniques suggère une prédominance des contaminations d'origine environnementale. L'analyse des cas caractérisés comme récidives (mammitte clinique avec nouvelle détection chez une vache de la même souche de *S. uberis* dans les 8 semaines suivant une infection initiale, malgré la disparition transitoire des signes cliniques) confirme la capacité de l'agent pathogène à persister dans certains cas au sein de la mamelle, même après traitement, et à causer une mammitte clinique récurrente (Abureema 2014; Wente et al. 2019).

En somme, *S. uberis* est capable de causer des mammites de sévérité et de durée variables, avec une prédominance des mammites cliniques non sévères et un passage à la chronicité qui n'est pas rare et rend ces infections particulièrement difficiles à traiter efficacement et durablement. Du point de vue épidémiologique *S. uberis* possède un réservoir mixte ; plusieurs études s'accordent sur la prédominance, en termes de nombre de cas, du réservoir environnemental avec des infections d'allure sporadique. Cependant des contaminations directes entre vaches sont possibles, objectivées par l'isolement de la même souche de *S. uberis* sur différentes vaches présentant une mammitte.

## D. Traitement et prévention des mammites à *Streptococcus uberis*

### i. Traitement en lactation : principes et limites

#### 1. Principes

Comme pour la plupart des autres agents étiologiques de mammites non sévères, le traitement des mammites à *Streptococcus uberis* repose sur l'administration d'un antibiotique par voie intra-mammaire durant plusieurs jours, accompagné ou non d'un antibiotique et d'un anti-inflammatoire par voie parentérale. Le plus souvent, la décision de traiter par voie parentérale

dépend de l'appréciation de la situation et des habitudes du vétérinaire ou de l'éleveur. L'inclusion systématique d'un anti-inflammatoire non stéroïdien dans le protocole de traitement d'une mammite, y compris non sévère, est recommandée (Mansion-de Vries, Hoedemaker, Krömker 2015). Le traitement systématique des mammites à *Streptococcus uberis* est recommandé car le pourcentage de guérison bactériologique est bien plus élevé après traitement antibiotique que sans traitement (McDougall et al. 2007). Historiquement, les mammites causées par des streptocoques sont réputées pour avoir de très bons taux de guérison clinique ; mais la guérison bactériologique est beaucoup plus difficile à atteindre pour ce type de mammite (Ziv 1980a).

#### a. Choix de l'antibiotique

Dans le cadre de la lutte contre l'antibiorésistance, le traitement antibiotique de première intention d'une mammite à *Streptococcus uberis* doit être ciblé contre cette bactérie avec le spectre le plus étroit possible, utilisant un antibiotique non critique de la classe la plus basse possible au regard des recommandations de l'European Medicine Agency et prouvé efficace contre la bactérie (Krömker, Leimbach 2017). Du fait de son spectre étroit, la benzylpénicilline est considérée comme le traitement de première intention pour les mammites à bactéries à Gram positif sensibles aux pénicillines, d'après les recommandations de l'Union Européenne pour un usage responsable des antibiotiques (Commission Européenne, 2015). *Streptococcus uberis* est justement un agent pathogène dont la sensibilité à la pénicilline G demeure excellente. Une souche de *Streptococcus uberis* est considérée sensible à la benzylpénicilline et à la céfalexine lorsque sa CMI vis-à-vis de ces deux antibiotiques est inférieure à 0,12 µg/mL d'après les normes du Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (Clinical Laboratory Standards Institute 2024).

Certains macrolides présentent également un spectre étroit dirigé contre les bactéries à Gram positif, comme la lincomycine ou la pirlimycine et peuvent être une alternative intéressante même si le traitement de première intention des mammites causées par *S. uberis* est le plus souvent la pénicilline G.

L'efficacité bactéricide de la pénicilline G, du pénéthamate, de la cloxacilline et des céphalosporines dans la lutte contre les infections mammaires à *S. uberis* en lactation est comparée par Hillerton et Berry dans une publication de 2003. Le pénéthamate est un éther diéthylaminoéthanol de pénicilline possédant une distribution rapide dans l'organisme et une affinité particulière pour la glande mammaire (pic de concentration dans le lait 7 heures après une injection intra-musculaire). Selon le RCP du PENETHAONE® 236,3 mg/mL (Laboratoire Biové SAS 2020), 98% du pénéthamate parvenant dans le lait est hydrolysé en benzylpénicilline, la substance active antibiotique. Son spectre est donc celui de la pénicilline G, à savoir les bactéries Gram + non productrices de bêta-lactamases. Selon Hillerton et Berry, l'efficacité du pénéthamate est excellente, car il présente l'avantage de la meilleure distribution dans la mamelle par rapport aux autres antibiotiques comparés. La cloxacilline, la pénicilline G et les céphalosporines présentent une moins bonne diffusion dans la mamelle, bien que correcte, et la sensibilité des souches de *S. uberis* à leur encontre leur confère également une bonne efficacité, notamment la pénicilline G dont l'efficacité est caractérisée comme excellente (Hillerton, Berry 2003).

La benzylpénicilline est un antibiotique bactéricide de la famille des β-lactamines, efficace contre la plupart des agents de mammites à Gram positif (Prescott 2013). Comme tous les



antibiotiques de cette famille, son mode d'action est basé sur l'inhibition de l'activité d'enzymes transpeptidases impliquées dans la synthèse du peptidoglycane, l'une des enveloppes de la paroi bactérienne. Ce sont des antibiotiques temps-dépendants, ce qui signifie que l'efficacité du traitement est fonction de la durée pendant laquelle la concentration en antibiotique reste au-dessus de la CMI (Erskine, Wagner, DeGraves 2003; Turnidge 1998; Prescott 2013). Pour lutter contre *Streptococcus uberis* il est principalement important que cette concentration soit suffisante dans le lait. Cependant, lorsque les capacités d'envahissement des cellules de certaines souches leur permettent d'accéder au milieu intracellulaire, cela pose la question de l'intérêt d'une bonne diffusion tissulaire. La pénicilline G est un acide faible (pKa 2,5) avec un volume de distribution entre 0,2 et 0,4 L/kg, qui a donc tendance à rester extracellulaire.

En 2000, une étude d'Ehinger et Kietzmann investiguant la distribution de la pénicilline administrée par voie intra-mammaire a conclu à une meilleure distribution et absorption dans la glande pour une formulation de type suspension huileuse avec de petites particules (forme micronisée), qui donne les plus grandes aires sous la courbe d'absorption en fonction du temps (Ehinger, Kietzmann 2000).

L'étude d'Abbeloos et al. publiée en 2018 sur des vaches saines traitées avec une seringue intra-mammaire contenant respectivement 200 000 UI, 300 000 UI ou 600 000 UI de benzylpénicilline (soit 200 mg, 300 mg et 600 mg) montre des moyennes de concentrations dans le lait allant de 2,46 à 4,49 µg/mL (pour 200 000 UI et 600 000 UI administrés, respectivement) à 24 heures post traitement. Ces valeurs sont dans les deux cas largement supérieures au seuil de CMI des souches de *S. uberis* considérées sensibles à la pénicilline, qui est de 0,12 µg/mL : pour l'administration de 600 000 UI, la moyenne des concentrations en benzylpénicilline dans le lait est en effet plus de 35 fois supérieure au seuil. A 48h post traitement ces concentrations ne sont plus que de 0,011 et 0,018 µg/mL. Une augmentation linéaire entre la dose injectée et la moyenne des aires sous la courbe de la concentration de benzylpénicilline dans le lait en fonction du temps a été observée. De plus, les concentrations en pénicilline dans le plasma ont été également évaluées dans cette étude : elles sont quantifiables jusqu'à 18 heures post traitement et augmentent linéairement avec la dose administrée dans le quartier. Cette étude conclut donc que des intervalles de 24 heures sont pertinents pour l'administration de benzylpénicilline par voie intra-mammaire, ce qui permet de ne manipuler le trayon qu'une fois par jour (particulièrement intéressant pour les éleveurs n'effectuant la traite qu'une seule fois par jour), en gardant des concentrations en principe actif dans le lait largement suffisantes (Abbeloos et al. 2018). Cependant, l'atteinte dans des concentrations suffisantes du milieu intracellulaire est incertaine.

En effet, la pénicilline G est un acide faible (pKa de 2,5) dont la distribution est limitée dans les tissus. Elle ne traverse pas ou peu la barrière hémato-mammaire. Le RCP de l'UBROPEN® indique que la pénicilline G est très peu absorbée par le tissu mammaire (Vetcare 2024). L'apparition du pénéthamate change la donne : en tant qu'ester, il est dénué d'activité antibiotique, mais davantage lipophile et diffuse donc facilement à travers les membranes phospholipidiques. Surtout, le pénéthamate est une base faible (pKa de 8,5) qui se concentre davantage sous forme ionisée dans les milieux acides comme le lait, dont le pH est inférieur à 7. La concentration de pénéthamate dans le lait est ainsi environ six fois plus élevée que dans le plasma et trente fois plus que celle de la pénicilline G dans le lait si elle avait été administrée sous forme acide et non sous forme ester. Dans le lait, l'ester est hydrolysé en pénicilline G active (Vandaële 2003; Ziv, Storper 1985).

En 2014, Kalmus et al. publient une étude investiguant la différence entre un traitement intra-mammaire et un traitement intramusculaire à base de benzylpénicilline et durant 5 jours, sur la guérison clinique et bactériologique de vaches présentant des mammites cliniques récentes à

germes à Gram positif dont la sensibilité *in vitro* à la benzylpénicilline est avérée. Les vaches ont été traitées une fois par jour pendant 5 jours avec soit 20 mg/kg de benzylpénicilline par voie intramusculaire, soit 600 mg par voie intra-mammaire. Près de la moitié des agents pathogènes identifiés étaient des souches de *Streptococcus uberis* et aucune différence significative entre les deux protocoles de traitement n'a été mise en évidence. La proportion de guérison bactériologique était inférieure à la proportion de guérison clinique ; le pourcentage de vaches guéries respectivement cliniquement et bactériologiquement d'une mammite aigüe à *S. uberis* était de 85,3% et 58,8% pour la voie intramusculaire, 68,8% et 50,0% pour la voie intra-mammaire (Kalmus et al. 2014).

Le traitement intra-mammaire de choix d'une mammite non sévère à *Streptococcus uberis* en première intention est donc basé sur l'utilisation de pénicilline G ou de certaines céphalosporines (Pyörälä 2009), de plus la voie intramusculaire est particulièrement indiquée en cas de localisations profondes (Sérieys 2003) et le pénéthamate se démarque par sa bonne diffusion tissulaire.

#### b. Spécialités disponibles en France

Les deux seules spécialités intra-mammaires à base de pénicilline G uniquement disposant d'une AMM pour la vache laitière en lactation en France en 2023 sont dosées à respectivement 1700 mg de benzylpénicilline par seringue de 10 mL (PROCAPEN®) et 340,8 mg de benzylpénicilline par seringue de 10 grammes (UBROPEN®).

Les deux spécialités intra-mammaires avec AMM en France en lactation ayant pour principe actif une céphalosporine non critique uniquement (sans anti-inflammatoire ni antibiotique d'une autre famille) sont la RILEXINE® et le CEFOVET® contenant respectivement 200 mg de céfalexine et 300 mg de céfazoline par seringue. Le RCP de la RILEXINE® précise que les concentrations en céfalexine retrouvées dans le tissu mammaire 72 heures après administration d'une seringue intra-mammaire sont comprises entre 5,12 et 13,94 µg equiv/g. Les concentrations dans le lait 12 heures après administration sont comprises entre 2,970 et 7,993 µg equiv/g (Virbac 2021).

En lactation, le pénéthamate ne dispose en France d'une AMM que pour une injection par voie parentérale (intra-musculaire). Le RCP du STOP M® (7,72 grammes de pénéthamate par flacon reconstitué) indique que suite aux administrations par voie intramusculaire des doses de 15 mg/kg le 1<sup>er</sup> jour puis 7,5 mg/kg les 2 jours suivants chez les vaches laitières, les concentrations en benzylpénicilline sont nettement supérieures dans le lait à celles observées dans le plasma. Les concentrations maximales moyennes observées dans le plasma sont de 732 et 357 ng/mL suite aux 1<sup>ère</sup> et 3<sup>ème</sup> injections, respectivement. Dans le lait, elles sont de 811 et 437 ng/mL, respectivement (BOEHRINGER INGELHEIM ANIMAL HEALTH FRANCE 2020).

Le RCP du PERMACYL® (182,5 mg de pénéthamate par mL de solution reconstituée) indique la nécessité de traiter à raison de 14,2 mg/kg/jour de pénéthamate pendant trois ou quatre jours. L'administration d'un flacon reconstitué de STOP M® soit 7,72 grammes de pénéthamate à une vache de 600 kg correspond à une posologie d'environ 12,9 mg/kg, posologie appliquée le premier jour de traitement et divisée par deux durant les deux jours suivants selon le RCP (DIVASA-FARMAVIC 2020).

### c. Durée de traitement

L'efficacité des traitements en lactation des mammites à *S. uberis* apparaît fortement dépendante de leur précocité et de leur durée (Poutrel 2015). De plus, des travaux préconisent de tenir compte pour le traitement d'une mammite à *S. uberis* des derniers comptages cellulaires individuels de la vache : en effet, une infection récente (pas plus d'un CCSI supérieur à 200 000 cellules/mL dans les trois mois précédant la mammite selon Samson et al.) a beaucoup plus de chances de guérison bactériologique qu'une mammite ancienne ou chronique (au moins 2 CCSI supérieurs à 200 000 cellules/mL dans les trois derniers mois) (Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016) et nécessitera un temps de traitement prolongé (Rémy 2010).

En effet, pour une mammite aigüe, il est recommandé de traiter la vache pendant 3 jours consécutifs (Rémy 2010). En revanche, d'après les recherches de Hillerton et al. en 2002, un traitement intra-mammaire ne permet d'obtenir que 60% de guérison dans le cas d'une infection ancienne contre 80% dans le cas d'une infection récente, et 70% contre 100% pour des durées de traitement respectivement de trois et six jours (Hillerton, Kliem 2002). D'autres études de terrain ont montré le bénéfice d'une augmentation d'une extension à 5 jours de la durée des traitements intra-mammaires pour la guérison bactériologique (Swinkels, Krömker, Lam 2014; Krömker et al. 2010).

### d. Synthèse

Les protocoles de traitement des mammites non sévères à *Streptococcus uberis* en lactation peuvent donc se composer d'un antibiotique par voie intra-mammaire seul : en première intention une pénicilline ou céphalosporine de première ou deuxième génération, en une ou deux applications par jour selon les RCP. Il est également fréquent d'associer voie parentérale et voie intra-mammaire, dans ce cas le premier choix est l'association de pénéthamate par voie intra-musculaire à une posologie située entre 10 et 15 mg/kg selon les RCP, pendant 3 à 4 jours, alternée (un à chaque traite) avec l'application d'une seringue intra-mammaire à base de pénicilline.

La durée de traitement peut aller de 3 à 5 jours dépendant de l'ancienneté de l'infection, avec laquelle elle doit s'accroître.

Enfin, l'ajout d'un anti-inflammatoire non stéroïdien par voie générale au moins une fois au début du traitement est possible et recommandé (Mansion-de Vries, Hoedemaker, Krömker 2015).

## 2. Limites

Le défi est d'atteindre dans le lait et idéalement dans le parenchyme mammaire, puisque *Streptococcus uberis* a la capacité d'envahir les cellules épithéliales, une concentration en pénicilline au-dessus de la CMI pendant un temps aussi long que possible. Lors d'une mammite, de nombreux facteurs résultant de l'inflammation peuvent entraver la distribution satisfaisante de la substance active. Le RCP de l'Ubropen® indique que chez les vaches en bonne santé, après une dose du produit administré par voie intra-mammaire, la concentration de pénicilline

dans le lait est restée supérieure à 0,15 µg/mL pendant au moins 24 heures, même lorsque le quartier a été vidé toutes les 2 heures pendant une période de 10 heures après l'administration. Cependant, la présence lors de mammite d'un œdème ou d'un exsudat au sein de la mamelle peut inhiber la distribution tissulaire de la pénicilline contenue dans le produit. Par conséquent, il est possible que les concentrations de médicament atteintes ne soient pas suffisantes (Vetcare 2024).

Une partie des échecs thérapeutiques est expliquée par cette difficulté à diffuser dans des concentrations satisfaisantes au sein de la mamelle inflammée. Les autres facteurs d'échec sont ceux liés aux facteurs de virulence intrinsèques de la bactérie : formation de biofilms, production de bêta-lactamases, formation de micro-abcès au sein de zones fibrosées, envahissement des cellules mammaires (Rémy 2010).

En ce qui concerne l'intérêt économique du traitement des mammites subcliniques en lactation, il est souvent contesté au regard du lait jeté durant la période de traitement et d'attente si les pertes de production laitière sont peu importantes et si l'augmentation du comptage cellulaire individuel est rendu négligeable par effet de dilution dans le tank. D'autre part, pour les infections chroniques, le taux de succès d'un traitement intra-mammaire en lactation est moindre (60%) par rapport à un traitement au tarissement dont les chances de guérison se situent entre 70 et 90% (Poutrel 2019). Cependant, contrairement à un certain nombre d'agents pathogènes à l'origine de mammites pour lesquels l'intérêt économique d'un traitement des mammites subcliniques en lactation est désavantageux au regard de la faible efficacité du traitement antibiotique comparé à une guérison spontanée, les streptocoques dont *S. uberis* présentent des taux de guérison significativement meilleurs avec traitement antibiotique au cours de la lactation que sans (Wilson et al. 1999).

## ii. Traitement hors lactation

Lors du traitement curatif d'une mammite à *Streptococcus uberis*, il est préférable de la même manière que pendant la lactation de choisir une spécialité contenant un seul antibiotique à spectre étroit ciblant les agents pathogènes Gram positifs. Les macrolides à spectre étroit Gram + sont également envisageables ; la rifaximine notamment est utilisée hors lactation mais classifiée C selon l'European Medicines Agency. Au tarissement, plusieurs spécialités intra-mammaires à base de benzylpénicilline, cloxacilline, céphalosporines de première ou deuxième générations (céfapirine, céfazoline, céfalonium) parfois associées à du pénéthamate disposent en France d'une AMM. Les spécialités à base de pénéthamate ou de benzylpénicilline autorisées en France en 2023 sont toutes associées à un antibiotique d'une autre famille (aminosides). Les bonnes pratiques en antibiothérapie au regard des faibles résistances de *S. uberis* aux bêta-lactamines recommandent donc en première intention l'usage d'une spécialité univalente à base de cloxacilline (spectre étroit, classifiée D selon l'European Medicines Agency (European Medicines Agency 2020)).

Ces seringues intra-mammaires hors lactation contiennent toutes 500 mg de cloxacilline par applicateur et assurent selon leurs RCP une concentration active supérieure à 2,4 µg/mL de cloxacilline dans les sécrétions de la mamelle pendant 3 semaines.

L'utilisation ciblée d'un antibiotique par voie générale lors de mammites, notamment chroniques, à *S. uberis* est envisageable en association avec la voie intra-mammaire. Le traitement de choix est le pénéthamate pour sa bonne diffusion dans la mamelle.

L'association du traitement antibiotique avec un obturateur interne pendant la durée de la période sèche est très fortement recommandée (Bergonier 2023).

### iii. Prévention

Comme pour beaucoup d'autres types de mammites, les piliers de la prévention d'infections mammaires à *Streptococcus uberis* sont l'hygiène de l'environnement et de la traite, la gestion du tarissement et éventuellement la vaccination. Il peut aussi être nécessaire de réformer les vaches infectées chroniques qui participent à la dissémination du germe dans l'environnement.

En ce qui concerne l'hygiène de couchage, les animaux doivent disposer d'une surface suffisante (6 à 8 m<sup>2</sup> par vache) et il est conseillé de pailler au moins une fois par jour avec une paille propre et sèche à raison de 1 à 2 kg de paille par mètre carré de surface de couchage. La litière doit être éliminée avant de chauffer excessivement, il est considéré qu'elle ne doit pas chauffer au-delà de 37°C dans les dix centimètres les plus superficiels (Poutrel 2019).

Les recommandations dans le domaine de l'hygiène de traite ne sont pas spécifiques aux infections à *S. uberis* mais s'appliquent également à l'ensemble des mammites à modèle contagieux ou mixte. Le nettoyage des trayons doit être réalisé avec des lavettes individuelles, stérilisées entre chaque traite, ou avec des lingettes à usage unique pour chaque animal. Il faut éviter les jets de lait sur le sol du quai de traite, source de contamination de l'environnement, et utiliser un bol à fond noir pour vérifier l'aspect du lait avant la traite. Il est fortement recommandé d'effectuer un pré-trempe ainsi qu'un post-trempe ; ce dernier est un facteur clé de réduction des mammites à *Streptococcus uberis*, quelle que soit leur expression clinique (Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016). Si possible, on utilise une griffe spécifique pour les vaches atteintes de mammites. La machine à traire doit être nettoyée en respectant les fréquences et les dosages des produits recommandés. Après la traite, le sphincter du trayon restant perméable pendant plusieurs dizaines de minutes, il est judicieux de maintenir les animaux debout après la traite, idéalement pendant au moins une heure, en distribuant la ration à ce moment-là par exemple (Poutrel 2019).

Un traitement ciblé au tarissement est particulièrement intéressant, comme pour les autres étiologies de mammites : pour les vaches considérées saines, ayant des CCSI au cours de la lactation et notamment les plus récents inférieurs à 150 000 cellules/mL, un obturateur interne seul est recommandé pour prévenir des infections pouvant survenir au cours de la période sèche. Pour les vaches douteuses (valeurs de CCSI en fin de lactation entre 150 000 et 200 000 cellules/mL, ou ayant eu une infection cliniquement guérie au cours de la lactation), on peut éventuellement associer un antibiotique à l'obturateur. En revanche, pour les vaches considérées comme infectées au tarissement c'est-à-dire présentant une mammite clinique ou des comptages cellulaires individuels supérieurs à 200 000 cellules/mL dans les deux derniers mois, il est fortement conseillé d'associer l'obturateur avec un antibiotique intra-mammaire ciblé contre *S. uberis*, comme décrit précédemment (Bergonier 2023).

La vaccination n'est que rarement mise en place dans la prévention des mammites, que ce soit pour les infections à *S. uberis* ou à d'autres agents pathogènes. En effet, les anticorps, dilués et vidangés dans le lait plusieurs fois par jour, s'avèrent être très peu efficaces dans la lutte contre les infections mammaires. Il existe en France en 2024 un seul vaccin possédant l'AMM pour les infections mammaires à *S. uberis* : UBAC® (Hipra). L'autorisation de mise sur le marché valide dans toute l'Union européenne a été reçue en juillet 2018. La substance active immunogène du vaccin est l'acide lipotéichoïque (LTA) du composant d'adhérence de biofilm

de *Streptococcus uberis*, souche 5616, à raison d'au moins 1 RPU (Unité d'Efficacité Relative en français). L'indication du vaccin est l'immunisation active de vaches et génisses en bonne santé, afin de réduire l'incidence des infections cliniques intra-mammaires, réduire le nombre des cellules somatiques dans les échantillons de lait issus des quartiers positifs et réduire les pertes de production laitière causées par *Streptococcus uberis*. Les doses de 2 mL doivent être injectées par voie intra-musculaire selon le schéma vaccinal suivant :

- Première dose environ 60 jours avant la date présumée de parturition.
- Deuxième dose au moins 21 jours avant la date présumée de parturition.
- La troisième dose doit être administrée environ 15 jours après le vêlage.

Le début de l'immunité se met en place environ 36 jours après la deuxième dose et dure approximativement pendant les 5 premiers mois de lactation. La documentation fournie par Hipra stipule que des essais terrain ont permis de prouver une baisse significative (environ 50%) de l'incidence de mammites cliniques à *S. uberis* chez les vaches vaccinées par rapport aux lots témoins (Laboratoire Hipra 2018). Cependant, les résultats indiquent que la vaccination a un effet sur la sévérité des infections, sans impact significatif sur la production laitière et l'incidence des infections (Poutrel 2019). La vaccination contre *Streptococcus uberis* telle qu'elle existe actuellement est donc un outil complémentaire intéressant dans certains cas mais qui ne suffit absolument pas à enrayer des problèmes de mammites à *S. uberis* au sein d'un élevage, et doit bien sûr être associé à d'autres mesures préventives et curatives telles que développées ci-dessus.

#### E. Estimation des coûts et des pertes spécifiquement liés à ce pathogène

L'importance économique des mammites liées à *Streptococcus uberis* est due, comme les autres mammites, aux coûts de traitements, aux réformes et à l'augmentation des comptages cellulaires ainsi qu'aux pertes de production laitière (dont lait jeté pendant la période d'attente suivant un éventuel traitement antibiotique) et à la modification de la composition du lait. De plus, les mammites à *S. uberis* peuvent parfois être sévères (Salat et al. 2023). Selon Poutrel, 2019, une diminution d'environ 10% de la production laitière, une augmentation d'environ 6% de la concentration de caséines dans le lait et une augmentation des cellules somatiques constituent en moyenne l'impact d'une infection mammaire à *S. uberis* sur la production et la composition du lait. Les estimations de coût pour l'éleveur vont de 109€ pour une mammite subclinique à 250€ pour les mammites cliniques (Poutrel 2019). Aux Etats-Unis, le coût d'une mammite clinique à *Streptococcus* spp. a été estimé à 174\$ en moyenne (162€) (Cha et al. 2014).

En 2018, Heikkilä et al. ont prouvé un impact significatif sur la perte de production laitière durant toute une lactation (305 jours) des mammites à *S. uberis* subcliniques survenant avant le pic de lactation, et cliniques entre 54 et 120 jours post-partum. En moyenne, ces épisodes infectieux étaient responsables d'une baisse de respectivement 6,6% et 4,2% de la production laitière sur l'ensemble de la lactation (Heikkilä et al. 2018). Ces pertes sont à mettre en relation avec le prix du litre de lait payé à l'éleveur, variant selon la zone géographique et la période concernée. Il en est de même pour les pénalités éventuellement appliquées si les mammites à *S. uberis* au sein d'un troupeau deviennent responsables d'une augmentation massive des comptages cellulaires du tank.

De par leur fréquence élevée, l'augmentation des comptages cellulaires ainsi que la perte de production laitière engendrés, les mammites à *Streptococcus uberis* sont donc d'une importance économique très sérieuse en élevage bovin laitier, en France et dans le monde.

#### F. Antibiorésistances connues et suspectées chez *Streptococcus uberis*

Le traitement des mammites non sévères à *Streptococcus uberis* repose principalement sur l'utilisation d'antibiotiques choisis de manière pertinente au regard de leur spectre (Gram positif) et de leur priorité d'utilisation. Cependant, comme pour de nombreuses bactéries d'intérêt médical, il se pose aujourd'hui la question d'éventuelles baisses de sensibilité de certaines souches de *S. uberis* aux antibiotiques à disposition.

Selon les données fournies par le Resapath entre 2012 et 2022, la résistance de ces streptocoques à plusieurs antibiotiques est en hausse. La résistance des souches à l'oxacilline (pénicilline M), estimée à 11% sur 1017 souches en 2012, est passée à 23% sur 930 souches en 2022. Même des fluoroquinolones, à spectre large, comme la marbofloxacin et l'enrofloxacin affichent une efficacité en baisse : respectivement 7% et 24% de résistances en 2012 contre 11% et 37% en 2022. La plupart des antibiotiques testés (Tableau 5) ont une proportion de résistances de *S. uberis* située entre 15% et 25% en 2022, ce qui est très important. Seules la gentamicine (500 µg) et la kanamycine (1000 µg) affichent toujours des résistances faibles, respectivement 2% et 7% (Resapath 2024d).

Tableau 5 : Proportions de résistances par antibiotique, souches de *Streptococcus uberis* isolées de mammites bovines en France en 2022 (Resapath, 2024).

Antibiotique	Nb total d'antibiogrammes	% Résistance
Doxycycline	38	21
Enrofloxacin	744	37
Erythromycine	990	13
Gentamicine 500 µg	1013	2
Kanamycine 1000 µg	673	7
Lincomycine	1024	17
Marbofloxacin	892	11
Oxacilline	930	23
Spiramycine	995	15
Streptomycine 500 µg	973	15
Tétracycline	955	21
Triméthoprim-sulfamides	1002	16
Tylosine	799	20

*Streptococcus uberis* est une bactérie habituellement caractérisée par sa forte sensibilité aux pénicillines : en 2010, aucune souche de *S. uberis* résistante à la pénicilline G n'avait jamais été décrite (Haenni, Madec 2010). Aucune donnée d'antibiorésistance de *S. uberis* à la pénicilline G n'est présentée par le Resapath mais les données concernant l'oxacilline (pénicilline M) semblent faire état de résistances. Cependant, Madec et Haenni alertaient déjà en 2010 sur l'apparition de souches de *S. uberis* moins sensibles aux pénicillines (oxacilline, pénicilline G, ampicilline et amoxicilline) présentant des CMI plus élevées mais cependant insuffisantes pour être caractérisées comme résistantes. Il s'est en effet avéré qu'un nombre important d'antibiogrammes réalisés avec la méthode des disques d'inhibition sur gélose qui concluaient à des résistances de *S. uberis* à l'oxacilline ont été démentis par détermination de la CMI, laquelle restait dans des intervalles permettant de caractériser la souche comme sensible (Haenni, Madec 2010). Le fort biais de sélection, précédemment évoqué, des souches analysées par le Resapath ne permet pas de conclure que ces résultats d'antibiorésistance de *S. uberis* sont représentatifs du terrain. L'augmentation des résistances au cours du temps est néanmoins remarquable, puisque le biais est constant. De plus, *Streptococcus uberis* est en France l'agent pathogène qui présente le taux le plus important de multirésistance comparé aux autres agents principaux de mammites bovines (14,5% entre 2006 et 2016 d'après les données du Resapath).

Bareille et al. effectuent en 2014 une étude sur les niveaux d'antibiorésistance des principaux germes à l'origine de mammites en France, parmi lesquels *S. uberis*. Ils concluent par comparaison avec des résultats précédemment obtenus à une augmentation des CMI de *S. uberis* vis-à-vis de la pénicilline G, sans pour autant qu'aucune souche testée n'ait été caractérisée comme résistante. Cette étude met cependant elle aussi en lumière une dynamique de baisse de sensibilité de *Streptococcus uberis* à la pénicilline G en France (Bareille, Leboeuf, Lequeux 2014).

Des sensibilités de 90% à 100% ont été enregistrées pour le ceftiofur, la céfalotine, l'érythromycine, l'oxacilline et la pénicilline dans le Wisconsin (USA) (Ruegg et al. 2015). Les résultats d'études d'antibiorésistance dans le monde peuvent dépendre de plusieurs paramètres, parmi lesquels les différences entre souches bactériennes et les habitudes thérapeutiques (pratiques d'antibiothérapie) selon les régions (Krömker, Leimbach 2017).

C'est pourquoi en 2021, Martins et al. publient une étude investiguant l'éventuel lien entre l'utilisation d'antibiotiques et les résistances présentées par les bactéries isolées lors de cas de mammites cliniques à *Streptococcus uberis* en troupeau bovin laitier dans 17 fermes brésiliennes. Les antibiotiques testés sont fréquemment utilisés dans le traitement de mammites à *S. uberis* : amoxicilline, ampicilline, céfalexine, ceftiofur, érythromycine, enrofloxacin, tétracycline et pénicilline. Leurs résultats montrent des proportions extrêmement élevées de résistance (interprétation de CMI basées sur les recommandations du CLSI de 2020) des 83 souches isolées : 20,5% d'entre elles sont résistantes à l'amoxicilline, 28,9% à la céfalexine, 57,8% à la pénicilline G, 59,0% à la tétracycline et 80,7% à l'érythromycine. Concernant l'utilisation en ferme des différentes classes d'antibiotiques, l'étude montre une prédominance, en quantité d'antibiotique intra-mammaire utilisé dans le traitement de mammites à *S. uberis*, des tétracyclines et des fluoroquinolones devant les céphalosporines et les macrolides. La pénicilline n'est que loin derrière. Le modèle de régression logistique mettant en relation l'utilisation d'un antibiotique et les résistances à celui-ci présentées par les souches de *S. uberis* dans les fermes de l'étude conclut avec certitude à l'existence d'un lien pour l'un des antibiotiques : la tétracycline. Les résultats de cette étude sont à nuancer au regard du faible nombre de vaches et gagneraient à être enrichis par les résultats d'études similaires menées à d'autres endroits et de plus grande ampleur (Martins 2021).



Une méta-analyse de 2023 comprenant des dizaines d'études sur l'ensemble des continents entre 1983 et 2022 estime la proportion globale de résistance de *S. uberis* à la pénicilline à 5,9%. Il s'avère que parmi les facteurs testés (continent, date de l'étude, type de mammite et méthode d'antibio-susceptibilité utilisée), seul le facteur « continent » était significatif pour expliquer l'hétérogénéité des résultats (Miotti et al. 2023). Concernant la résistance à l'érythromycine, la proportion globale estimée est de 15,62% ; elle est de 8,4% pour l'ampicilline, 1,5% pour la céfalotine et 51,4% pour la gentamicine (Miotti et al. 2023). La forte résistance de *S. uberis* à la tétracycline et son augmentation au cours du temps sont connues (Boireau et al. 2018), atteignant 30,9% en moyenne au niveau mondial (Miotti et al. 2023).

Pour la plupart des antibiotiques testés, l'étude de Miotti et al. ne permet pas de conclure à une augmentation avec le temps des taux de résistance de *S. uberis*. L'hétérogénéité des résultats selon les études était très grande pour tous les antibiotiques testés à l'exception de la céfalotine. La variabilité génomique au sein de la population mondiale de *S. uberis* permet partiellement d'expliquer ces grandes différences constatées entre les études (Miotti et al. 2023).

Il faut d'autre part considérer que les résistances évaluées *in vitro* à partir de souches préalablement isolées ne reflètent pas les difficultés supplémentaires rencontrées *in vivo*. En effet, la mise en contact de la substance active avec la bactérie, dans des concentrations et durées suffisantes pour en garantir l'efficacité, peut être empêchée par de nombreux facteurs parmi lesquels la diffusion dans la mamelle présentant fréquemment des remaniements inflammatoires, la vidange et la dilution dans le lait, la capacité de *Streptococcus uberis* à former des biofilms et à envahir les cellules épithéliales mammaires. Les résistances constatées en laboratoire ne sont donc qu'un des paramètres susceptibles d'expliquer un échec thérapeutique au regard des nombreuses difficultés qui existent, ce qui rend d'autant plus précieux leur maîtrise.

Pour conclure, il semble que les proportions de résistance à *S. uberis* vis-à-vis de différents antibiotiques, qui varient parfois massivement selon les publications, puissent dépendre de plusieurs paramètres dont la date, le lieu, la méthode d'antibiogramme utilisée et les pratiques thérapeutiques de la zone d'étude. Depuis plusieurs années, les recherches s'intensifient et mettent en lumière une tendance : l'antibiosensibilité de *S. uberis*, comme celle de nombreux autres agents pathogènes bactériens, est globalement en diminution et il faut s'en alarmer (Krömker, Leimbach 2017).

### III. Enjeux et défis d'une antibiothérapie adaptée aux mammites chroniques à *Streptococcus uberis*, objectifs de cette étude

Dans les dernières années, la prise de conscience massive autour des problématiques d'antibiorésistance a donné lieu à de nombreux travaux de recherche visant à évaluer et restreindre la perte d'efficacité des antibiotiques. Cette étude se positionne dans la même dynamique en recherchant l'abord le plus adapté parmi deux protocoles de traitement antibiotique des mammites non sévères à *Streptococcus uberis*. L'originalité, par rapport à d'autres études sur les mammites à *S. uberis*, est la prise en compte pour chaque vache traitée d'un paramètre clé : le comptage cellulaire individuel, qui indique l'ancienneté de l'infection et affecte sa probabilité de guérison.

## A. L'ancienneté de l'infection influence significativement la probabilité de guérison des mammites à *Streptococcus uberis*

A la lumière des connaissances actuelles, il est admis que les chances de guérison des mammites à *S. uberis* sont fonction de paramètres individuels dépendant de chaque vache, voire de chaque quartier, bien plus que d'éventuelles propriétés qui diffèreraient selon les souches bactériennes. En ceci *S. uberis* se démarque d'autres agents pathogènes comme *S. aureus* pour lesquels la guérison bactériologique dépend plus fortement des caractéristiques de la souche, notamment en terme d'antibiorésistance.

De manière générale lors de mammite, une vache plus âgée (parité plus élevée) a moins de chances de guérir (Deluyker, Van Oye, Boucher 2005; McDougall et al. 2007; Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016; Schukken et al. 2003), de même que lorsqu'elle a déjà présenté des épisodes de mammites dans la lactation en cours ou lors des années précédentes (Ziesch, Krömker 2016; Schukken et al. 2003).

Un paramètre est primordial à prendre en compte pour en prédire l'issue : le comptage cellulaire individuel. L'historique inflammatoire rend compte de la durée de l'infection, qui influe sur les chances de guérison. En effet, il a été prouvé sur des mammites à *S. uberis* que plus la mammite en cours est ancienne (comptages cellulaires élevés depuis plusieurs contrôles), moins les chances de guérison sont importantes : il est donc non seulement pertinent mais recommandé de prendre en compte les comptages cellulaires dans le protocole de traitement d'une mammite à *S. uberis*. De plus, la probabilité de guérison bactériologique n'est pas associée à la sévérité des signes cliniques (Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016).

Le traitement des mammites chroniques est donc complexe ; il représente un défi pour lequel la stratégie d'antibiothérapie doit être précisément étudiée.

## B. Comparaison des voies parentérale et intra-mammaire, résidus antibiotiques

### i. Avantages et inconvénients de chaque voie

Les voies parentérale et locale présentent chacune des avantages et des inconvénients dans le cadre de l'antibiothérapie des infections mammaires bovines.

Concernant le coût pour l'éleveur, l'avantage économique est pour la voie intra-mammaire. De plus, l'administration est peu douloureuse et le risque de sélection de résistances bactériennes pour la flore digestive est moindre par rapport à l'injection parentérale. Cependant, il existe des obstacles majeurs à la diffusion du produit parmi lesquels la vidange de la mamelle lors des traites ainsi que les phénomènes inflammatoires (congestion, caillots). Il est à noter que pour une administration réalisée dans des conditions d'hygiène inadéquates, le risque est de contaminer encore plus le quartier (Rémy 2010; Bousquet-Melou 2022).

*A contrario*, la voie systémique permet l'atteinte de l'ensemble du tissu mammaire, ce qui est primordial pour les agents pathogènes capables d'infiltrer les cellules. Elle présente l'avantage d'atteindre tous les quartiers, et elle est incontournable pour la gestion des mammites sévères. Mais l'administration est plus douloureuse et nécessite une contention, le coût est supérieur tout comme le risque de sélection d'antibiorésistances notamment sur la flore digestive, et le choix

de la molécule est limitée aux molécules ayant une bonne diffusion mammaire (Rémy 2010; Bousquet-Melou 2022).

Enfin, la voie intra-mammaire présente l'avantage d'une moindre quantité d'antibiotique utilisée pour atteindre de très bonnes concentrations en substance active dans le lait, par rapport à la voie parentérale (Rémy, 2010). L'administration locale de 600 mg de benzylpénicilline par jour pendant 5 jours dans un quartier (cas fréquent en pratique) utilise un total de 3 000 mg tandis que pour une vache laitière de 600 kg, l'injection intramusculaire de la même molécule à la posologie de 20 mg/kg pendant 5 jours représente un total de 60 000 mg de benzylpénicilline soit 20 fois plus (Kalmus et al. 2014).

## ii. Résidus antibiotiques

Bien que des règles aient été mises en œuvre dans le but de limiter la présence de résidus antibiotiques dans les aliments destinés à la consommation humaine, ces mesures ne sont pas infaillibles car il existe une variabilité individuelle de l'élimination des substances actives, et de plus il n'y a pas d'harmonisation mondiale de ces mesures de sécurité.

L'utilisation massive des antibiotiques chez les animaux de production reste un des facteurs de risque de développement d'antibiorésistance chez l'humain, qui est une préoccupation majeure et pourrait avoir des répercussions encore plus catastrophiques qu'elles ne le sont déjà. Aujourd'hui, environ 700 000 personnes meurent chaque année d'une infection par un germe bactérien multirésistant. Sans apport de solutions menant à une vraie réduction de ces résistances, il est estimé que d'ici 2050 près de 10 millions d'humains mourront chaque année d'une infection causée par une bactérie antibiorésistante (O'Neill 2014). Dans une logique de réduction de l'utilisation des antibiotiques sur le plan mondial, il est nécessaire d'optimiser les protocoles de traitement pour utiliser mieux, et donc moins, les médicaments antibiotiques vétérinaires.

Comme tous les médicaments vétérinaires à destination des animaux de production en France, les spécialités intra-mammaires et parentérales utilisées dans les protocoles thérapeutiques des mammites bovines à *Streptococcus uberis* sont soumises à des temps d'attente durant lesquels les produits animaux (dans ce cas surtout le lait, mais aussi la viande) ne peuvent être destinés à la consommation humaine.

Le temps d'attente se définit comme la période minimale entre la dernière administration d'un médicament vétérinaire à un animal et l'obtention de la denrée alimentaire provenant de cet animal qui, dans des conditions normales d'utilisation, est nécessaire pour garantir que ces denrées alimentaires ne contiennent pas de résidus en quantités nocives pour la santé publique (Jaeg 2020). Un seuil réglementaire dit limite maximale de résidus (LMR) est ainsi défini en tenant compte de la toxicité de la substance et de l'exposition possible du consommateur de denrées. Les limites maximales de résidus sont fixées par décision de la Commission Européenne basée sur un avis scientifique rendu par l'Agence européenne du médicament. Le règlement n°2018/782 de la Commission Européenne fixe la méthodologie d'évaluation des demandes de limites maximales de résidus. L'évaluation couvre l'innocuité de la substance active et le comportement de ses résidus dans les tissus de l'animal traité. A partir de la détermination d'une dose journalière acceptable (DJA) pour le consommateur et des études de déplétion de la substance dans les denrées cibles des animaux traités, la projection des niveaux de résidus selon les quantités préconisées de chaque denrée dans la consommation humaine permet de proposer ou non une LMR avec l'application de facteurs de sécurité.

L'annexe 1 du règlement (UE) n° 37/2010 mis à jour en 2024 donne la liste des substances autorisées en médecine vétérinaire et leur LMR dans les aliments d'origine animale. Concernant la benzylpénicilline, la LMR dans le lait est de 4 µg/kg.

## 1. Lait

Les temps d'attente dans le lait des médicaments administrés aux vaches en Europe sont calculés sur la base de deux traites régulières par jour. La conclusion de l'étude publiée en 2003 par Knappstein, Suhren et Walte indique que même en n'effectuant la traite que 1,5 fois par jour, dans le lait de vaches saines traitées par voie intra-mammaire dans les 4 quartiers avec 1898 mg par quartier de pénicilline G en trois administrations répétées à 24h d'intervalle chacune, la concentration en pénicilline G dans le lait est inférieure à la LMR à l'issue du temps d'attente indiqué dans le RCP de la spécialité. Lorsque la fréquence de traite est augmentée à 3 fois par jour, les concentrations en pénicilline G dans le lait chutent significativement plus rapidement que lorsque la traite n'a lieu qu'1,5 fois par jour (Figure 5). A noter que parmi les facteurs individuels suivants, aucun n'a été prouvé influent dans la concentration de pénicilline dans le lait : rang de lactation, stade de lactation, production laitière et CCSI (Knappstein, Suhren, Walte 2003).

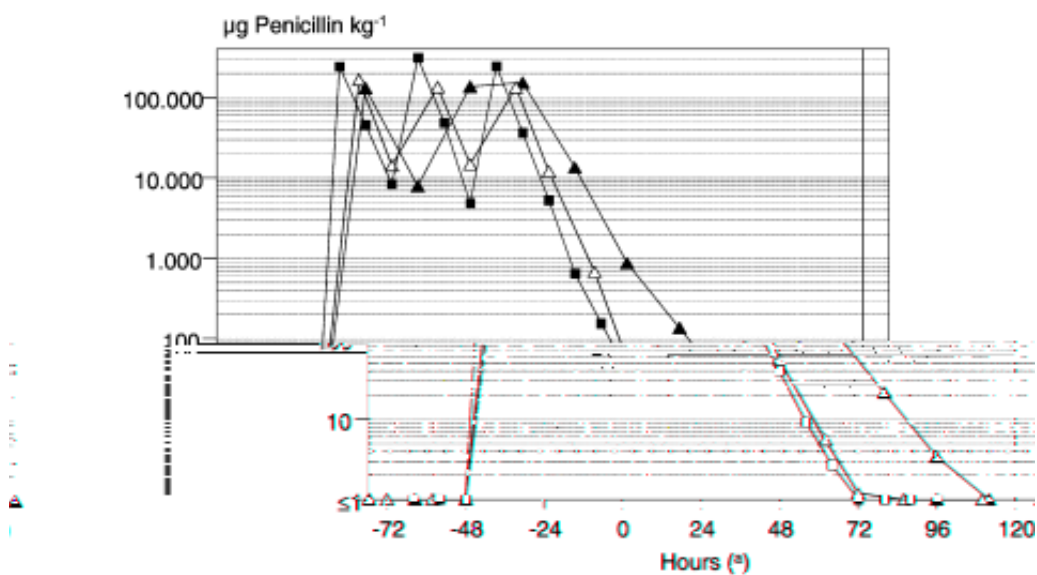


Figure 5 : Excrétion de la pénicilline dans le lait (µg/kg) en fonction de la fréquence de traite (3, 2 et 1,5 fois par jour), cinq vaches par groupe. Fréquence de traite par jour : (■) 3 fois, (Δ) 2 fois, (▲) 1,5 fois ; (—) temps d'attente, (---) LMR. (Knappstein K, Suhren G, Walte H-G ; Influence of milking frequency on withdrawal period after application of β-lactam antibiotic-based drugs, *Analytica Chimica Acta* 483 (2003) 241–249, 2003).

Les résidus de pénicilline G lors de traitement intra-mammaire en lactation présentent plusieurs avantages. Ils sont pour la plus grande partie rapidement et sûrement éliminés dans le lait lors de la traite comme l'a montré cette étude, même lorsque l'administration est maximale (Knappstein, Suhren, Walte 2003). De plus, la quantité d'antibiotique administrée lors du traitement intra-mammaire d'un quartier étant bien moindre par rapport au même traitement

parentéral, les résidus excrétés par l'organisme le sont aussi. Enfin, cette voie est moins à risque de sélectionner des résistances bactériennes (Rémy 2010).

## 2. Viande

L'administration de bêta-lactamines par voie parentérale résulte en un temps d'attente relativement important pour la viande, contrairement à la voie intra-mammaire dont les temps d'attente viande sont généralement plus faibles que pour le lait voire nuls. L'excrétion se fait par voie urinaire rapidement grâce à des transporteurs actifs, partiellement par voie biliaire pour les composés amphotères. Une partie des antibiotiques administrés par voie diathélique peut cependant se retrouver aussi dans la circulation sanguine et être éliminée ainsi, ce qui donne lieu à des temps d'attente viande même pour les spécialités intra-mammaires (Bousquet-Melou 2022).

Les non-conformités relevées dans la viande bovine en France concernent en majorité (44%) les vaches laitières de réforme : si beaucoup de questions se posent par rapport au lait, la présence de résidus antibiotiques dans la viande de vaches laitières est à considérer tout autant. Le non-respect des temps d'attente est la cause principale de non-conformité, suivi par le non-respect des prescriptions vétérinaires. Un taux global de 0,7 % de non-conformité pour les prélèvements de 2013 sur la viande de bovin testée peut toutefois être considéré comme très faible au regard des critères de ciblage utilisés (Roudaut, Fournet, Hurtaud-Pessel 2017).

Il est également à considérer que de très nombreux éleveurs bovins laitiers nourrissent, dans un but de rentabilité économique, les jeunes veaux avec le lait écarté des traites pendant le temps d'attente. Les résidus antibiotiques contenus dans ce lait se retrouvent donc dans le corps des veaux et ce de manière sous-évaluée car officieuse et non contrôlée qui peut représenter un risque supplémentaire de retrouver *in fine* ces substances dans l'alimentation humaine. De plus, cette pratique augmente significativement la pression de sélection sur les flores digestives et favorise l'émergence de résistances au sein du tube digestif des veaux (Bousquet-Melou 2022).

### C. Objectifs

L'objectif de cette étude est de déterminer s'il existe une différence, et de quelle nature, entre deux protocoles de traitement antibiotique de première intention des mammites chroniques subcliniques et cliniques non sévères à *Streptococcus uberis* en lactation. Le premier protocole comporte un antibiotique administré seulement par voie intra-mammaire, l'autre protocole y ajoute un antibiotique par voie parentérale. Nous avons choisi d'adapter spécifiquement nos protocoles thérapeutiques aux mammites chroniques, selon les recommandations de plusieurs publications (Rémy 2010; Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016). Les résultats apportés par cette étude terrain visent à appuyer ou préciser les protocoles de traitement mis en place en clientèle par les vétérinaires praticiens.

L'objectif visé est le gain d'efficacité thérapeutique tant du point de vue économique, du bien-être animal et humain que d'un respect optimal des bonnes pratiques d'antibiothérapie. Il est primordial que le traitement mis en place en première intention lors d'une mammite à *S. uberis* objectivée comme chronique présente les meilleures chances possibles de guérison bactériologique et soit adapté à l'ancienneté de la mammite. Un traitement incomplet mène à

d'apparentes récurrences, surtout dans le cas d'une bactérie parfois difficile à éliminer comme *S. uberis*. Il augmente le temps et la quantité d'antibiotiques utilisés puisqu'il faudra à nouveau traiter, parfois avec des antibiotiques de deuxième intention dont l'usage est à surveiller avec encore plus grande précaution.

La CMI vis-à-vis de la pénicilline G des souches isolées est mesurée par deux méthodes, Etest® et Mastatest®, afin de mettre en évidence d'éventuelles résistances et d'investiguer le lien entre CMI et probabilité de guérison bactériologique. La pertinence du Mastatest® en tant qu'outil de diagnostic bactériologique est également évaluée dans une démarche de thérapie ciblée.

Traiter mieux, de manière ciblée vis-à-vis de l'agent pathogène incriminé et de l'ancienneté de la mammite, est un pas de plus dans l'utilisation raisonnée et judicieuse des antibiotiques en pratique courante vétérinaire. Cette étude a pour objectif d'y participer en apportant une réponse à la problématique suivante : en France, lors d'une mammite bovine non sévère chronique à *Streptococcus uberis*, quelle est la meilleure option thérapeutique en première intention dans le respect des bonnes pratiques d'antibiothérapie ?

## DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

La pénicilline G demeure l'antibiotique de choix dans le traitement des infections mammaires à *Streptococcus uberis*. En effet, en France, aucune souche n'a encore été détectée comme résistante à cet antibiotique. Cependant, de plus en plus de souches isolées de mammites présentent des concentrations minimales inhibitrices augmentées vis-à-vis de la pénicilline G et le lien entre pression de sélection et développement de résistance a été clairement établi *in vitro* pour cette bactérie (Haenni, Lupo, Madec 2018). De plus, sur le terrain, sont constatés de nombreux « échecs » (récidives ou absence de guérison cellulaire) suite aux traitements classiques des infections mammaires à *Streptococcus uberis*.

Le pénéthamate est également une molécule de grand intérêt pour traiter les infections à *Streptococcus uberis*. En effet, ses propriétés lui permettent non seulement de diffuser dans l'ensemble du parenchyme mammaire (Vandaële 2003), ce qu'une congestion du tissu mammaire peut empêcher lors d'un traitement local, mais aussi d'atteindre des concentrations efficaces au niveau intracellulaire où peuvent se réfugier certaines souches de *Streptococcus uberis* (Rémy 2010).

L'administration parentérale quotidienne de pénéthamate (15 mg/kg) a permis d'atteindre des concentrations élevées de pénicilline G dans le lait (toujours supérieure à 0,25 µg/ml) au moins pendant les 12 heures qui suivent l'injection mais les niveaux résiduels de pénicilline G constatés 24 heures après l'injection, même s'il existe une variabilité individuelle et entre les différents quartiers de la mamelle, peuvent se révéler bien en deçà de cette limite (Rohner, Schällibaum, Nicolet 1985; Passchyn et al. 2010). Le maintien de concentrations efficaces de pénicilline G dans le lait entre les 12 et 24 heures après l'injection est donc douteux. La combinaison d'un traitement parentéral à base de pénéthamate avec un traitement local à base de pénicilline G, décalé dans le temps (traite du matin pour l'injection intra-mammaire, traite du soir pour le pénéthamate ou inversement) pourrait permettre d'éviter cette baisse des concentrations dans le lait.

Pour ces raisons, les deux protocoles testés sont respectivement un traitement local intra-mammaire (IMM) seulement à base de pénicilline G, et une alternance d'administrations de pénicilline par voie locale et de pénéthamate par voie intra-musculaire (IM).

Nous nous intéressons en outre dans cette étude à la CMI des souches de *S. uberis* isolées vis-à-vis de la pénicilline G, réalisée par la méthode Etest® (BioMérieux). L'intérêt est d'évaluer les valeurs de CMI et l'apparition d'éventuelles résistances, ainsi que de déterminer s'il existe une relation entre cette CMI et le taux de guérison bactériologique.

Le partenariat avec le laboratoire Vetoquinol nous permet de tester sur chaque échantillon de lait le diagnostic bactériologique et la CMI déterminés par le Mastatest®, et de les comparer avec les méthodes de référence que sont respectivement la bactériologie sur géloses et la détermination de CMI par Etest®.

Ce travail présente les premiers résultats d'un essai clinique qui a pour ambition de répondre aux questions suivantes :

- L'utilisation combinée d'un traitement local à base de pénicilline G et d'un traitement parentéral à base de pénéthamate est-il significativement supérieur à l'administration de pénicilline G intra-mammaire seule pour la guérison bactériologique des mammites chroniques à *S. uberis* ?

- La valeur de CMI de souches de *Streptococcus uberis* isolées de mammites bovines chroniques non sévères a-t-elle une influence sur le taux de guérison bactériologique des mammites ?
- Quelle est la fiabilité du diagnostic bactériologique et de la CMI des souches de *Streptococcus uberis* à la pénicilline G donnés par le Mastatest® de Vetoquinol ?

## I. Matériel et méthodes

### A. Protocole expérimental

#### i. Sélection des cas

Conformément aux recommandations faites par plusieurs auteurs, nous avons voulu considérer de manière distincte les mammites chroniques. Les chances de guérison sont nettement moins bonnes pour une mammité évoluant depuis plus longtemps, ce qui justifie une durée de traitement allongée en première intention (Rémy 2010; Steele, McDougall 2014).

En médecine, la définition d'une affection chronique est très imprécise. Si aucun seuil consensuel n'existe, on considère souvent que le passage à la chronicité a lieu lorsque la pathologie dure depuis plus de deux semaines (Diquelou 2020).

La définition d'une mammité chronique est assez floue. Selon la Fédération Internationale de Laiterie, une mammité chronique est une inflammation de la mamelle qui perdure sur une longue période de temps, pouvant présenter des épisodes cliniques ou subcliniques (International Dairy Federation 2011). On associera souvent à la chronicité d'une infection mammaire la notion d'une évolution vers la fibrose cicatricielle du quartier (Péton 2014).

Il n'existe pas de consensus dans la littérature scientifique permettant de définir avec précision la nature récente ou chronique d'une mammité bovine. Dans la plupart des travaux de recherche, les CCSI sont utilisés pour évaluer l'ancienneté d'une mammité. Cependant, les seuils et durées fixés varient parfois considérablement selon les publications. En 2003, StRose et al. considèrent qu'une mammité subclinique est chronique lorsque les deux derniers CCSI sont supérieurs à 500 000 cellules/mL (StRose et al. 2003) ; dans une autre étude, la chronicité est estimée par la présence de deux CCSI successifs supérieurs à 250 000 cellules/mL (Steenefeld, Swinkels, Hogeveen 2007). Le seuil de 200 000 cellules/mL est cependant considéré dans plusieurs travaux, notamment récents, comme la référence pour objectiver une inflammation de la mamelle (Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016; Bonestroo et al. 2021; Schepers et al. 1997). Pour Samson en 2016, une mammité est qualifiée de récente si au moins les deux CCSI précédant le diagnostic sont inférieurs à 200 000 cellules/mL (Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016). Concernant le passage à la chronicité, il est situé par Bonestroo et al. entre 3 et 4 semaines après le début de l'infection initiale (Bonestroo et al. 2021).

Nous avons choisi pour trancher les critères de durée de l'infection et de valeur des CCSI qui suivent.



## 1. Critères d'inclusion

Nous avons considéré qu'une mammite définie comme chronique doit durer depuis strictement plus de 14 jours (Diquelou 2020) et que ce qui atteste de la survenue d'une mammite est un CCSI supérieur à 200 000 cellules/mL (Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016; Bonestroo et al. 2021; Schepers et al. 1997).

Il est nécessaire pour cette étude que les vaches présentent des mammites subcliniques à clinique non sévères (de grade 1 ou 2), soit une hausse des comptages cellulaires individuels au-delà de 200 000 cellules/mL plus ou moins une modification de l'aspect du lait plus ou moins une inflammation locale de la mamelle. Pour s'assurer de l'étiologie de la mammite, une bactériologie sur gélose en clinique vétérinaire effectuée sur le lait du quartier concerné doit permettre la mise en évidence de *Streptococcus uberis* en culture pure.

Afin de pouvoir vérifier la guérison bactériologique après traitement, il est nécessaire de pouvoir disposer de lait du quartier durant 3 semaines après la fin du traitement ce qui suppose que la vache ne soit pas tarie durant cette période.

De plus, la vache doit provenir d'un troupeau dans lequel les CCSI sont régulièrement et correctement enregistrés. Cette qualité est laissée à l'appréciation des vétérinaires praticiens qui travaillent avec leur clientèle.

En combinant ces paramètres, nous sommes arrivés aux critères d'inclusion suivants pour une mammite chronique :

- Vache présentant une mammite clinique non sévère ou subclinique affectant un seul quartier, d'où est isolé *Streptococcus uberis* seul (en culture pure) et qui ne doit pas être tarie dans les 3 semaines qui suivent l'apparition de la mammite ;
- Vache présentant un (des) CCSI(s) supérieur(s) à 200 000 cellules/mL, depuis strictement plus de 14 jours avant le début du traitement ;
- Vache appartenant à un troupeau où les CCSI sont régulièrement mesurés et les événements sanitaires, en particulier les mammites, correctement enregistrés.

## 2. Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion suivants s'appliquent dans tous les cas :

- Vache à mammite sévère (de grade 3), c'est-à-dire affectant l'état général de l'animal et présentant tout ou partie des symptômes suivants : fièvre, abattement, hyporexie ou anorexie, diminution de la motricité ruminale objectivée par la fréquence et la nature des contractions, décubitus ;
- Vache présentant une affection intercurrente qui nécessite un traitement antibiotique complémentaire ;
- Vache présentant une lésion grave de la peau du trayon ou une lésion du sphincter du quartier affecté par la mammite : ces lésions diminuent les chances de guérison et sont un facteur de risque élevé de recontamination (Rémy 2010) ;
- Vache recevant un traitement autre que celui permis par l'essai à partir de son inclusion (non-respect du protocole) ;

- Eleveur ne fournissant pas les prélèvements de lait post-traitement nécessaires à l'évaluation de la guérison bactériologique.

Les traitements comparés dans cette étude ne sont pas ceux recommandés en cas de mammite sévère, ils sont très insuffisants pour offrir de bonnes chances de soigner l'animal dont la survie est en jeu (Igoho-Moradel 2023a). Inclure une vache présentant une mammite clinique de grade 3 dans cette étude est donc impossible à cet égard.

De plus, la présence d'affection intercurrente nécessitant le recours à d'autres médicaments antibiotiques que ceux prévus dans l'étude ou tout simplement le non-respect par l'éleveur du protocole thérapeutique peuvent fausser les résultats et conduisent donc à l'exclusion de l'étude des vaches concernées.

Les vaches qui cochent les critères d'inclusion mais présentent cependant au moins un critère d'exclusion ne peuvent pas participer à cette étude.

### 3. Données collectées

Pour chaque vache, les données suivantes sont collectées :

- Identification de l'animal : numéro de travail ou nom de l'animal tel qu'utilisé par l'éleveur ;
- Identification de l'élevage : dénomination de l'entreprise ;
- Grade de sévérité de la mammite (de 0 à 2) : 0 pour une mammite subclinique (augmentation des CCSI uniquement), 1 pour une mammite clinique de grade 1 (grade 0 + altération macroscopique de l'aspect du lait), 2 pour une mammite clinique de grade 2 (grade 1 + inflammation de la mamelle : douleur, chaleur, gonflement) ;
- Quartier atteint : avant gauche (AVG), avant droit (AVD), arrière gauche (ARG), ou arrière droit (ARD) ;
- Rang et stade de lactation : rang de lactation caractérisé comme 1 (première lactation), 2 (deuxième lactation) ou  $\geq 3$  (troisième lactation ou plus). Le stade de lactation était caractérisé par un numéro entre 1 et 12 correspondant au nombre de mois depuis le dernier vêlage ;
- CMI Etest® en mg/L (équivalent à des  $\mu\text{g/mL}$ ) ;
- Résultat bactériologique et CMI en mg/L donnés par Mastatest® ;
- Date de début du traitement ;
- Dates et valeurs des CCSI n-1, n-2, n+1 et n+2 (« n » représentant chronologiquement le moment où la vache est incluse dans l'étude) et éventuels antécédents récents connus de mammite. Les CCSI sont exprimés en nombre de cellules/mL ;
- Dates et résultats des bactériologies réalisées post-traitement ;
- Commentaires éventuels du praticien vétérinaire.

Les données essentielles à l'inclusion d'une vache sont l'identification de l'animal et de l'élevage, le grade de la mammite, les dates et valeurs des CCSI pré-traitement, la date de début de traitement, les dates et résultats des bactériologies post-traitement. L'accès à ces données est une condition *sine qua non* à l'inclusion. Nous avons toléré, dans le nombre minimal possible de cas, que les autres données soient incomplètes.

## ii. Identification pré-traitement de *Streptococcus uberis* et détermination de la CMI vis-à-vis de la pénicilline G

L'identification en culture pure de *Streptococcus uberis* comme agent pathogène responsable de la mammite est réalisée, conformément aux recommandations de la Commission Européenne pour un usage prudent des antimicrobiens en médecine vétérinaire (2015/C 299/04) qui préconise d'effectuer un test aidant à l'identification des agents pathogènes avant traitement. L'objectif est de diminuer la quantité d'antibiotique utilisée en mettant en place en première intention un traitement pertinent qui cible la bactérie impliquée.

Le résultat d'identification bactériologique permet de commencer le traitement. Ce délai n'a pas d'impact sur la réussite du protocole. En effet, dans la majorité des cas, un délai de 24 à 48 heures entre le début des symptômes de mammite non sévère et le début du traitement antibiotique, pendant lequel l'identification bactérienne est réalisée, n'entraîne pas de diminution significative des chances de guérison (Roberson 2003; de Jong, Creytens, De Vlieghe, et al. 2023; Bates et al. 2020).

### 1. Prélèvement de lait

L'état général de l'animal n'étant pas atteint et ne justifiant pas de consultation par le vétérinaire au chevet de la vache, le prélèvement de lait est réalisé dans la plupart des cas par l'éleveur formé, conservé au froid positif (+ 4°C) et amené à la clinique pour réalisation de la bactériologie.

Les recommandations pour la bonne réalisation d'un prélèvement de lait aseptique, dont la réussite conditionne le résultat de la bactériologie, sont les suivantes (Faroult, Le Page 2006) :

- Nettoyage correct du trayon avec une lavette imprégnée d'eau savonneuse, suivi d'un essuyage avec du papier absorbant. Ce nettoyage est à renouveler tant que le papier n'est pas propre.
- En portant des gants d'examen, procéder à la désinfection du trayon à l'aide d'un coton hydrophile ou d'une lingette antiseptique imprégnée d'alcool à 70°. Il convient, durant cette phase, d'insister tout particulièrement sur le sphincter.
- Un pot à prélèvement stérile est tenu horizontalement dans la main non directrice, de manière à ce que la main directrice dévise le bouchon. Le bouchon est immédiatement placé à l'horizontale entre le pouce et l'index de la main non directrice de façon à protéger l'ouverture d'une contamination accidentelle.
- La main directrice procède à l'élimination des premiers jets puis dirige quelques jets dans le pot de prélèvement maintenu horizontalement. De petites quantités de lait suffisent amplement pour le diagnostic bactériologique.
- Le pot est immédiatement rebouché et clairement identifié (numéro de l'animal et quartier prélevé).
- Le prélèvement est ensuite placé dans une glacière avant son acheminement vers la clinique.

## 2. Culture bactériologique sur géloses : identification de *S. uberis* en culture pure

La méthode utilisée ici est une adaptation de celle parfois connue sous le nom de « Patho 12 » mise au point par Salat en 2017 (Salat 2017). Il s'agit d'une méthode simplifiée d'identification bactérienne en clinique vétérinaire, possédant d'excellentes sensibilité et spécificité : 91% et 93%, respectivement. Le coefficient  $\kappa$  qui mesure la concordance entre les résultats donnés par deux méthodes est également excellent (supérieur à 0,8) pour la plupart des germes par rapport à la méthode de référence, MALDI-TOF (Salat 2024). Elle est réalisée en établissement de soin vétérinaire dans un espace « laboratoire » dédié.

L'ensemencement se fait à partir de lait prélevé de manière aseptique et gardé à +4°C. Pour l'identification de *Streptococcus uberis*, deux géloses du commerce sont ensemencées chacune avec 30  $\mu$ L de lait à l'aide d'une öse stérile (BioMérieux), par un opérateur portant des gants et sous poste de sécurité microbiologique (PSM). Les géloses ensemencées sont les suivantes :

- Gélose COS (Columbia agar, sang de mouton 5%) qui permet la croissance non sélective des bactéries, même exigeantes ;
- Gélose CNA : (Columbia agar, sang de mouton 5%, colistine 10 mg/L, acide nalidixique 15 mg/L) qui inhibe la croissance des bactéries Gram négatives.

Les géloses sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures. L'observation de colonies sur la gélose COS permet de vérifier la qualité du prélèvement : on ne doit obtenir qu'un seul type de colonies bactériennes. L'analyse d'une éventuelle hémolyse sur la gélose COS n'est pas pertinente pour l'identification de *S. uberis* dont toutes les souches ne présentent pas le même profil hémolytique (Schabauer, Titz, Ehling-Schulz 2014). Le développement de colonies sur gélose CNA confirme la nature Gram positive de l'agent pathogène.

La deuxième étape consiste en un test très rapide permettant de différencier les streptocoques et entérocoques des staphylocoques et corynébactéries. Il s'agit du test à l'eau oxygénée (ou peroxyde d'hydrogène, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) mettant en évidence la présence ou l'absence de l'enzyme catalase. Ce test consiste à déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène sur une lame de verre. Une colonie bactérienne est ensuite prélevée avec précaution sur la gélose et dissociée dans la goutte. Une réaction effervescente traduit la formation de dioxygène par la dégradation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O + ½ O<sub>2</sub>: le germe, alors dit "catalase +", est un staphylocoque ou une corynébactérie. S'il n'y a pas d'effervescence, le germe, dit "catalase -", est un streptocoque ou un entérocoque (Schmitt-Van de Leemput, Schmitt-Beurrier 2005).

L'avant-dernière étape de l'identification de *S. uberis* se fait par ensemencement d'un tube de milieu gélosé à l'esculine commercialisé par BioMérieux (esculine 1 g/L, citrate de fer ammoniacal 0,5g/L) permettant la mise en évidence d'esculinase. *S. uberis* possédant cette enzyme, il est capable de dégrader l'esculine du milieu en dextrose et esculetine, laquelle réagit avec le citrate ferrique du milieu. Cette dernière réaction engendre un noircissement du milieu de culture, recherché pour l'identification de *S. uberis*. L'ensemencement se fait immédiatement après le test catalase. L'observation d'un noircissement du milieu de culture après incubation de cette gélose à 37°C pendant quelques heures permet d'avancer dans l'identification de *Streptococcus uberis*.

Enfin, une dernière étape est nécessaire pour différencier *S. uberis* des entérocoques et streptocoques du groupe D : on ensemence une gélose « bile-esculine » (gélose D-Coccosel, BioMérieux). En effet, hormis certaines entérobactéries Gram négatives, seuls les entérocoques et streptocoques du groupe D selon la classification de Lancefield tolèrent la bile pour se

développer mais ces bactéries peuvent également hydrolyser l'esculine, ce qui ne les différencie pas de *S. uberis* à l'étape précédente (Dionisio, Borrego 1995; Edberg, Pittman, Singer 1977; Chuard, Reller 1998; Swan 1954). La gélose D-Coccosel (DCO) se compose d'azote de sodium à 0,25 g/L pour inhiber les bactéries Gram négatives, de bile à 10 g/L qui permet de sélectionner les entérocoques et streptocoques du groupe D ainsi que de citrate de fer ammoniacal à 0,5 g/L et d'esculine à 1 g/L qui permettent la réaction de noircissement décrite à l'étape précédente. Au terme de 24 heures d'incubation à 37°C, l'absence de noircissement de la gélose DCO, dernière étape de l'identification bactériologique sur gélose, permet la mise en évidence de *S. uberis* à partir du prélèvement initial de lait.

### 3. CMI : Etest® (BioMérieux)

Une fois *Streptococcus uberis* identifié dans un prélèvement de lait, sa CMI vis-à-vis de la pénicilline G est estimée par la méthode de l'Etest® commercialisé par BioMérieux. Cette méthode de détermination de CMI sur bandelette plastique contenant un gradient de concentration d'antibiotique est présente sur le marché depuis plusieurs décennies et a prouvé sa solidité, au point de figurer parmi les méthodes de référence (Daher, Lopardo, Ruboglio 2002; Conceição et al. 2020).

Le test se présente sous la forme d'une bandelette de plastique mince, inerte et non poreuse, imprégnée de gradients prédéfinis de concentration antibiotique (couvrant 15 doubles dilutions comme pour les méthodes de CMI conventionnelles).

La détermination de la CMI se fait en déposant une bandelette sur une gélose ensemencée. On obtient après incubation de 18 à 24 heures à 37°C une ellipse d'inhibition. La CMI se lit alors sur l'échelle graduée, à l'intersection entre l'ellipse d'inhibition et la bandelette, en µg/mL (équivalent à des mg/L).

### 4. Mastatest®

Les principales caractéristiques de l'analyseur portable Mastatest® (Vetoquinol) ont été présentées en première partie de ce travail. L'analyse de l'échantillon de lait grâce au Mastatest® se fait dès l'obtention du résultat bactériologique *Streptococcus uberis* par la méthode des géloses. Nous n'avons pas de raison de penser que ce délai de 24 à 48 heures entre les deux analyses durant lesquelles le prélèvement de lait est réfrigéré à +4°C est susceptible d'affecter la détection de *S. uberis* par le Mastatest®. En effet, une conservation à +4°C pendant 7 jours n'a pas d'incidence sur la composition du lait de vache (Saenz-de-Juano, Silvestrelli, Ulbrich 2024) ; des échantillons réfrigérés ou même congelés sont également utilisés dans de nombreuses autres études sans différence dans les résultats d'identification bactérienne des streptocoques (Schukken et al. 1989; Gao et al. 2017; Fortin et al. 2003).

Une fois raccordé à une connexion internet, l'analyseur s'utilise de manière extrêmement simple comme suit : le prélèvement de lait est versé par un opérateur portant des gants dans une cassette dédiée présentant 24 puits. La cassette est retournée pour vider l'excédent de lait. Le couvercle de la cassette, ouvert pour le remplissage, est refermé. On tapote fermement la cassette sur une surface plane à quelques reprises afin de s'assurer que le lait est bien descendu

au fond de tous les puits. Enfin, la cassette est insérée dans l'analyseur, il faut rentrer le numéro de la vache pour lancer le test. Les résultats sont envoyés par mail sous 24 heures.

Ce test identifie le ou les agent(s) pathogène(s) parmi les catégories suivantes : *E. coli* / autres Gram -, *Klebsiella* spp. / *Serratia* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, staphylocoques coagulase-négatifs, *Streptococcus dysgalactiae* et autres streptocoques, et « autres Gram + ». L'analyseur est également capable d'effectuer un antibiogramme et de donner une évaluation de la CMI pour trois antibiotiques : cloxacilline, benzylpénicilline et tylosine. Seule le résultat de CMI vis-à-vis de la benzylpénicilline est considéré dans cette étude.

Ce n'est cependant pas une technique d'antibiogramme reconnue car l'inoculum bactérien n'est pas calibré.

### iii. Protocoles A ou B en répartition aléatoire

#### 1. Protocoles A et B

Cette étude est un essai clinique de supériorité randomisé sur l'effet d'un traitement intra-mammaire (protocole A) à base de pénicilline G ou d'une combinaison de traitements intra-mammaire et intramusculaire (protocole B) de pénicilline G et de pénéthamate sur la guérison bactériologique de mammites chroniques non sévères à *Streptococcus uberis*.

Une fois l'identification bactérienne terminée avec la méthode des géloses qui est celle de référence, chaque vache reçoit l'un des deux protocoles suivants (Figure 6). Dans chaque cas, les médicaments sont délivrés par le vétérinaire sur ordonnance et le traitement est effectué en ferme par l'éleveur.

Le protocole A fait partie de ceux utilisés fréquemment en France pour les mammites non sévères à *Streptococcus uberis* en clientèle bovine laitière (voir première partie de ce travail). Il consiste en l'administration d'un antibiotique à base de benzylpénicilline par voie intra-mammaire, une fois par jour à la même heure durant 5 jours consécutifs, sur trayon propre et désinfecté par un opérateur portant des gants. L'administration se fait après vidange du quartier, donc après la traite. Le choix d'une durée de traitement de 5 jours (le RCP du produit indique « 3 à 5 jours ») se justifie par de meilleurs résultats obtenus sur des mammites anciennes, déjà largement observés sur le terrain (Rémy 2010; Krömker et al. 2010; Swinkels, Krömker, Lam 2014). La seringue utilisée comporte un embout court (5 mm) et un embout long (20 mm). L'utilisation de l'embout court est préférée car l'insertion partielle réduit l'irritation du canal du trayon lors de l'application. Elle est associée à de meilleurs résultats en termes de guérison clinique et d'incidence de nouvelles infections (Boddie, Nickerson 1986; McDougall 2003). Exceptionnellement en cas d'œdème important, l'insertion totale par l'embout long est justifiée. L'appréciation de cette situation est laissée à l'éleveur.

Le protocole B consiste en l'administration d'un antibiotique à base de pénicilline G par voie intra-mammaire et d'un antibiotique à base de pénéthamate par voie intra-musculaire, en alternance pendant 5 jours. Une fois par jour à la même heure durant 5 jours consécutifs, après la traite sur trayon propre et désinfecté, la suspension intra-mammaire est administrée par embout court de préférence, dans le trayon du quartier infecté. En alternance (donc le soir si l'injection intra-mammaire est faite le matin, ou inversement), une fois par jour durant ces cinq

mêmes jours, la vache reçoit une injection intra-musculaire de pénéthamate à la posologie de 14,2 mg/kg.

Les produits sont utilisés conformément à leurs RCP. Le traitement intra-mammaire du commerce utilisé contient 600,00 mg (600 000 UI) de benzylpénicilline procaine monohydratée par seringue. Il s'agit de l'Ubropen® 600mg de Boehringer Ingelheim Animal Health France SCS (AMM numéro FR/V/8338299 8/2016). Les temps d'attente viande et lait sont de 3 et 6 jours, respectivement. Le traitement intra-musculaire se présente sous la forme d'une suspension à reconstituer contenant après reconstitution 8517,6 mg (9 000 000 UI) d'iodhydrate de pénéthamate. Pour une vache de 600 kg, il est utilisé à la posologie de 14,2 mg/kg pour un volume administré de 36 mL en injection intra-musculaire profonde une fois par jour pendant 5 jours. Il s'agit du Permacyl® de Vetoquinol S.A. (AMM numéro FR/V/9881147 6/2015). Les temps d'attente viande et lait sont de 4 et 2,5 jours, respectivement.

	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jours 19 et 26
Protocole A	Traite 1 ↓ Ubropen	Traite 1 ↓ Ubropen	Traite 1 ↓ Ubropen	Traite 1 ↓ Ubropen	Traite 1 ↓ Ubropen	Bactériologie
Protocole B	Traite 1 ↓ Ubropen    Traite 2 ↓ Permacyl	Traite 1 ↓ Ubropen    Traite 2 ↓ Permacyl	Traite 1 ↓ Ubropen    Traite 2 ↓ Permacyl	Traite 1 ↓ Ubropen    Traite 2 ↓ Permacyl	Traite 1 ↓ Ubropen    Traite 2 ↓ Permacyl	Bactériologie

Figure 6 : Présentation des protocoles A et B (production personnelle, 2024).

## 2. Randomisation

A toute vache incluse dans le tableau de collecte des données est attribué aléatoirement un protocole de traitement A ou B. La liste de randomisation a été effectuée sur logiciel Microsoft Excel® (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

## 3. Collecte des données

Les données brutes rassemblées par l'ensemble des cliniques vétérinaires participantes peuvent être consultées à chaque instant par les membres de l'étude, en possession du lien permettant d'accéder au fichier se présentant sous forme de tableau Google Sheets (produit de Google Ireland Limited) (Annexe 1). L'accès au document nécessite une connexion internet. Les données suivantes sont collectées pour chaque vache incluse : identification de l'animal, identification de l'élevage, grade de sévérité de la mammite (de 0 à 2), quartier atteint, rang et stade de lactation, date de début du traitement, CMI Etest®, résultat bactériologique et CMI donnés par Mastatest®, date et valeur des CCSI n-1, n-2, n+1 et n+2 (« n » représentant chronologiquement le moment où la vache est incluse dans l'étude), date et résultat des bactériologies réalisées post-traitement, éventuels commentaires.

#### iv. Bactériologie post-traitement à la clinique

Nous avons choisi en accord avec de précédents travaux de réaliser deux bactériologies à 14 et 21 jours après la fin du traitement (McDougall et al. 2007; Steele, McDougall 2014; Svennesen et al. 2023; Salat et al. 2008; Schukken, Deluyker 1995). Le lait est prélevé en ferme par l'éleveur et l'analyse bactériologique est exactement identique à celle réalisée avant traitement.

Il est considéré que la guérison bactériologique est atteinte si deux prélèvements de lait successifs sont négatifs pour *Streptococcus uberis* (prélèvement stérile ou éventuellement identification d'un autre agent pathogène sans mise en évidence de *Streptococcus uberis* (Taponen et al. 2003)). Les CCSI dans les deux mois après la fin du traitement sont utilisés comme une information complémentaire mais non décisive.

### B. Sélection des cliniques et élevages participants

#### i. Cliniques participantes

Cette étude est menée dans la clientèle de 3 cliniques vétérinaires françaises. Deux d'entre elles sont situées dans le département du Cantal, à Riom-ès-Montagnes et Saint-Flour. La troisième est située en Haute-Savoie à Valleiry.

Toutes ces cliniques ont une clientèle bovine laitière importante (au moins la moitié de la clientèle bovine), réalisent elles-mêmes des analyses bactériologiques du lait et diagnostiquent très fréquemment des mammites à *Streptococcus uberis* en lactation dans les troupeaux qu'elles suivent.

La méthode de bactériologie utilisée est détaillée ci-dessus, elle est réalisée dans des conditions comparables dans les 3 cliniques : présence d'une pièce dédiée au sein de la clinique, même matériel (géloses, öses, incubateur, Mastatest®, Etest®) utilisé dans toutes les cliniques. Tous les opérateurs sont habitués à la pratiquer antérieurement à cette étude.

#### ii. Elevages participants

Les vétérinaires proposent à des éleveurs laitiers de leur clientèle de participer volontairement à cette étude s'ils rencontrent des cas de mammites non sévères. Si le protocole de l'étude est respecté par l'éleveur, les analyses bactériologiques et les traitements sont financièrement pris en charge par le laboratoire Vetoquinol. Dans le cas contraire (non-respect du protocole thérapeutique ou prélèvements de lait non effectués à 14 et 21 jours après la fin du traitement pour évaluer la guérison bactériologique), la vache est exclue de l'étude et les analyses et traitements sont facturés.

Les fermes de cette étude sont de taille moyenne (entre 50 et 150 vaches laitières) ; différents systèmes d'élevage sont représentés, principalement sur logettes ou aires paillées. Toutes les vaches incluses dans cette étude sont de race Prim'Holstein ou Montbéliarde.



Toutes les exploitations participantes effectuent une traite biquotidienne. Les élevages possèdent des salles de traite diverses, la grande majorité cependant présente deux quais de traite possédant chacun 5 ou 6 places.

### iii. Financement de l'étude

Cette étude réalisée en partenariat avec les clientèles vétérinaires est financée par le laboratoire Vetoquinol S.A (Lure Cedex 70204 France).

L'inclusion des cas dans cette étude repose sur la participation volontaire des éleveurs, et présente pour eux certaines contraintes : attente des résultats d'analyse bactériologique avant d'initier un traitement, bon respect du protocole imposé, prélèvements de lait à amener à la clinique 14 et 21 jours après la fin du traitement. En contrepartie, le laboratoire Vetoquinol prend financièrement en charge toutes les analyses, comprenant les bactériologies sur géloses (matériel et temps passé par le vétérinaire), les analyses Mastatest® (matériel fourni et aide à l'installation, temps passé par le vétérinaire) et également les analyses en MALDI-TOF en laboratoire d'analyses vétérinaires si besoin de confirmer une identification bactérienne (coût de l'analyse et de l'envoi).

Les traitements sont pris en charge par Vetoquinol également, aussi bien intra-mammaires que parentéraux (Ubropen® et Permacyl®). Le Permacyl® est un médicament commercialisé par le laboratoire Vetoquinol.

Ce sponsoring a permis d'offrir intégralement le traitement et les analyses aux éleveurs participants ainsi que de financer le matériel utilisé et le temps passé par les vétérinaires.

## C. Méthodologie statistique

### i. Principe d'un essai de supériorité

Cette étude est un essai randomisé de supériorité, qui compare les résultats de guérison bactériologique pour le groupe test (protocole de traitement B, administration intra-mammaire et parentérale combinées) avec ceux du traitement de référence (protocole A, voie intra-mammaire seule). Plusieurs études prouvent l'intérêt du protocole A, ce qui nous permet de le considérer comme traitement de référence (Svennesen et al. 2023; Kalmus et al. 2014; Pyörälä 2009; Wilson et al. 1999).

Le principe d'une étude de supériorité est de prouver que les deux traitements sont significativement différents, l'un étant plus efficace que l'autre, c'est-à-dire que les intervalles de confiance à 95% de leur efficacité respective objectivée par le taux de guérison bactériologique ne se chevauchent pas (Figure 7) (Herr, Descatha, Aegerter 2017; Wang et al. 2017; Christensen 2007; Ganju, Rom 2017).

On définit ainsi deux hypothèses  $H_0$  et  $H_1$  :

$$H_0 : [P_{\text{guérison protocole B}} - P_{\text{guérison protocole A}}] \leq 0$$

$$H_1 : [P_{\text{guérison protocole B}} - P_{\text{guérison protocole A}}] > 0$$

**Supériorité :**

$H_0$  : L'IC<sub>95%</sub> de la différence d'efficacité contient 0 ou est entièrement  $<0$

$H_1$  : L'IC<sub>95%</sub> de la différence d'efficacité est entièrement  $>0$

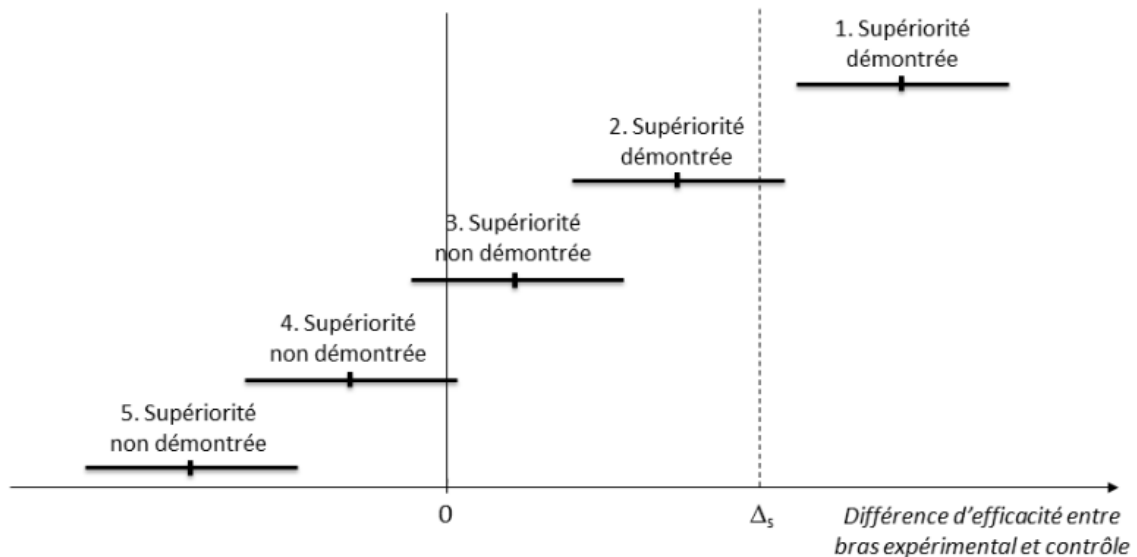


Figure 7 : Hypothèses et règles de décision d'un essai de supériorité (Herr, Descatha, Aegerter, Essais de non-infériorité et d'équivalence : points clés de méthodologie, 2017).

ii. Nombre de sujets nécessaires

Une estimation du nombre de cas à inclure dans chaque groupe pour pouvoir conclure de manière significative a été calculée en amont de l'étude, s'appuyant sur les différences d'efficacité attendues entre les traitements d'après la littérature scientifique disponible.

La formule suivante est utilisée (Wang et al. 2017; Herr, Descatha, Aegerter 2017) :

$$N = (Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})^2 \times 2\sigma^2 / (\delta)^2$$

Avec  $\alpha$  le risque de première espèce (classiquement fixé à 0,05 pour les études de ce type),  $\beta$  le risque de deuxième espèce (classiquement fixé à 0,2 pour les études de ce type),  $\sigma$  une estimation de l'écart-type de la réponse basé sur des études antérieures,  $\delta$  la différence d'efficacité attendue entre les deux traitements,  $Z_{1-\alpha} = 1,64$  si  $\alpha = 0,05$  et  $Z_{1-\beta} = 0,84$  si  $\beta = 0,2$  (Herr, Descatha, Aegerter 2017).  $Z_{1-\alpha}$  et  $Z_{1-\beta}$  sont les quantiles de rang respectivement  $1-\alpha$  et  $1-\beta$  de la fonction de répartition de la loi normale centrée réduite.

Le risque de première espèce  $\alpha$  représente la probabilité de rejeter l'hypothèse nulle alors que celle-ci est vraie.

Le risque de deuxième espèce  $\beta$  représente la probabilité d'accepter l'hypothèse nulle alors qu'elle est en réalité fausse.

$(1-\beta)$  représente la puissance de l'étude c'est-à-dire la probabilité de rejeter l'hypothèse nulle sachant qu'elle est effectivement incorrecte.

Dans un contexte de critère de jugement qualitatif comme c'est notre cas (les issues sont « guérison bactériologique » ou « non-guérison bactériologique »),  $2\sigma^2$  est approximé par :

$$[pA (1- pA) + pB (1- pB)]$$

Avec  $pA$  = le pourcentage moyen de guérison attendu avec le nouveau traitement et  $pB$  = le pourcentage attendu avec le traitement de référence.

Nous disposons *a priori* de peu de données sur le traitement des mammites non sévères à *S. uberis* par une combinaison de pénéthamate IM et de pénicilline G IMM : les études citées précédemment utilisent toutes des protocoles différents et quasi exclusivement la voie IM (et non une combinaison locale et parentérale) ; ne caractérisent pas toutes précisément *S. uberis*, et la posologie du pénéthamate n'est pas celle que préconise le RCP de la spécialité que nous utilisons dans cette étude. En faisant une moyenne des résultats d'efficacité disponibles pour le traitement de mammites à *Streptococcus uberis* ou *Streptococcus* spp. au pénéthamate intramusculaire ou en combinaison avec un antibiotique intra-mammaire, nous estimons la probabilité de guérison avec le protocole combiné B à environ 85% (Svennesen et al. 2023; Salat et al. 2008; Sérieys et al. 2005; Steele, McDougall 2014).

Pour déterminer une approximation de l'efficacité de notre traitement de référence en terme de guérison bactériologique, nous avons également comparé les études disponibles. Beaucoup d'études utilisaient des préparations qui n'étaient pas seulement à base de pénicilline G (avec un autre antibiotique en association), à une posologie différente de la nôtre ou sans donner de distinction d'espèce parmi les agents pathogènes caractérisés comme *Streptococcus* spp. Après analyse et tri de ces données et réalisation d'une moyenne, l'efficacité que nous attendons du traitement intra-mammaire seul à base de pénicilline G sur les mammites chroniques à *S. uberis* est d'environ 60% (Kalmus et al. 2014; Svennesen et al. 2023; Rémy 2010).

Au regard de ces calculs nous avons donc considéré une différence d'efficacité attendue  $\delta$  d'environ 25%.

Les calculs *a priori* des effectifs nécessaires compte tenu des efficacités attendues estimées de chaque protocole de traitement donnent ainsi 36 vaches à inclure pour chaque groupe soit 72 vaches au total pour l'étude.

### iii. Corrélation entre la CMI Etest® et le taux de guérison bactériologique

Afin d'évaluer s'il existe une corrélation entre la valeur de CMI et la guérison bactériologique, un modèle de régression logistique est utilisé (Stoltzfus 2011) avec le logiciel R (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche). Les valeurs de CMI utilisées sont celles obtenues par Etest®, qui est la méthode de référence et donne des valeurs plus précises que le Mastatest®.

## II. Résultats

Ce travail présente les résultats obtenus sur une durée de près de 15 mois, entre juin 2023 et août 2024 inclus. Sur cette période, 38 cas ont pu être inclus dans l'étude. Cet effectif n'atteint pas le nombre estimé de cas nécessaires pour conclure sur la supériorité ou non du protocole B par rapport au protocole A. L'étude est donc encore en cours et les résultats présentés ici ne sont pas définitif. Ce manuscrit de thèse a vocation à présenter les premiers résultats disponibles au regard de l'avancée actuelle des inclusions. Ce travail sera amené à être repris et complété lorsque les effectifs seront atteints.

Aucun effet secondaire néfaste attribuable au traitement n'a été observé, dans aucun des groupes.

### A. Guérison bactériologique

#### i. Analyse descriptive

A ce jour, 38 cas sont inclus dans l'étude, répartis en 17 cas pour le protocole A et 21 cas pour le protocole B. Sur cette période de temps, 22 cas ont été exclus en cours d'étude (vache réformée, mauvais traitement appliqué, impossibilité de suivi bactériologique complet post-traitement). Pour tous les cas inclus, au moins une bactériologie a été réalisée post-traitement, le plus souvent deux (deux bactériologies réalisées pour 35/38 vaches soit 92,1% des cas). Exceptionnellement, une seule bactériologie positive pour *S. uberis* suffisait à caractériser le cas comme non guéri et il pouvait être conservé dans l'étude. Une seule bactériologie négative ne permettait pas de dire si le quartier était guéri ou non, et le cas était donc écarté des résultats de l'étude. Le Tableau 6 donne la répartition des cas clinique par clinique. Quelques données non essentielles pour l'étude (parité ou stade de lactation) sont occasionnellement manquantes.

Tableau 6 : Répartition des cas entre les différentes cliniques (production personnelle, 2024).

	Saint-Flour	Riom-ès-Montagnes	Valleiry	Total
Nombre de cas (A/B)	21 (11/10)	11 (5/6)	6 (1/5)	38 (17/21)
Parité (nombre de lactations)	1 : 2 (13%) 2 : 1 (7%) ≥ 3 : 12 (80%)	1 : 1 (9%) 2 : 2 (18%) ≥ 3 : 8 (73%)	1 : 1 (20%) 2 : 1 (20%) ≥ 3 : 3 (60%)	1 : 4 (13%) 2 : 4 (13%) ≥ 3 : 23 (74%)
Stade de lactation (mois)	1 - 3 : 7 (35%) 4 - 6 : 11 (55%) 7 - 9 : 2 (10%) ≥ 10 : 0 (0%)	1 - 3 : 2 (20%) 4 - 6 : 4 (40%) 7 - 9 : 3 (30%) ≥ 10 : 1 (10%)	1 - 3 : 4 (100%) 4 - 6 : 0 (0%) 7 - 9 : 0 (0%) ≥ 10 : 0 (0%)	1 - 3 : 13 (38%) 4 - 6 : 15 (44%) 7 - 9 : 5 (15%) ≥ 10 : 1 (3%)
Grade de la mammite	0 : 9 (43%) 1 : 4 (19%) 2 : 8 (38%)	0 : 5 (46%) 1 : 4 (36%) 2 : 2 (18%)	0 : 0 (0%) 1 : 4 (67%) 2 : 2 (33%)	0 : 14 (37%) 1 : 12 (31,5%) 2 : 12 (31,5%)
Guérison bactériologique (%A ; %B)	36,4% (4/11) ; 80% (8/10)	60% (3/5) ; 66,7% (4/6)	100% (1/1) ; 80% (4/5)	47,1% (8/17) ; 76,2% (16/21)

Le Tableau 6 montre que le pourcentage total de guérison bactériologique est de 63,2% (24/38). Chez les vaches ayant reçu le traitement A (pénicilline G 600 mg IMM pendant 5 jours), il est de 47,1% (8/17). La guérison est objectivée chez 76,2% (16/21) des vaches ayant reçu le traitement B (pénicilline G 600mg IMM + pénéthamate 14,2 mg/kg IM pendant 5 jours).

Au sein de l'échantillon, 74% des vaches sont à leur troisième lactation ou plus. Le détail de la parité au-delà de la troisième lactation n'est pas connu précisément.

On constate que 82% des cas ont lieu en première moitié de lactation, entre le premier et le sixième mois.

La répartition des cas entre mammites de grade 0, 1 et 2 est très homogène (37%, 31,5% et 31,5% respectivement).

## ii. Analyse statistique

La démonstration de la supériorité se base sur la comparaison des intervalles de confiance à 95% des moyennes de guérison bactériologique pour chacun des deux protocoles (cf. paragraphe I. C. 1). Les moyennes de guérison bactériologique pour le protocole A et le protocole B sont de 47,1% et 76,2%, respectivement.

Pour le groupe ayant reçu le protocole A, l'intervalle de confiance à 95% de la moyenne de guérison bactériologique est [22,6% ; 71,6%]. Pour le groupe B, cet intervalle est [58,6% ; 93,7%]. L'intervalle de confiance à 95% de la différence est [- 3,45; 61,65].

L'intervalle de confiance de la différence entre les deux moyennes n'est pas strictement au-dessus de 0, ce qui ne permet pas de conclure avec certitude à la supériorité du protocole B.

## B. CMI Etest®

### i. Analyse descriptive

La CMI de 95 souches de *Streptococcus uberis* vis-à-vis de la pénicilline G a été mesurée par Etest®. Nous avons plus de données pour cet aspect de l'étude car nous avons pu prendre en compte 57 cas supplémentaires (écartés des résultats de guérison bactériologique pour des erreurs d'inclusion ou issus d'une première phase de l'étude finalement abandonnée). Pour certains de ces cas, les mêmes traitements ont été appliqués bien que le résultat final ne puisse pas être inclus dans la comparaison des protocoles. Nous avons donc tout de même choisi d'intégrer leurs valeurs de CMI et résultats de guérison bactériologique dans notre approche évaluant la corrélation entre ces deux paramètres. En revanche, nous ne pouvons plus considérer ici que nous parlons uniquement de mammites chroniques car 57 des 95 CMI testées (60%) le sont pour des mammites donc la chronicité n'est pas avérée selon la définition retenue pour cette étude.

La CMI moyenne réalisée avec la méthode de référence Etest® (BioMérieux) des souches de *Streptococcus uberis* mises en évidence était de 0,0375 µg/mL [0,0297 ; 0,0453] (Tableau 7).

Une souche dont la CMI est légèrement au-dessus de 0,12 µg/mL (par exemple, 0,125 µg/mL) possède une sensibilité certes diminuée au regard du seuil donné par le CLSI mais n'est en réalité pas nécessairement résistante (Haenni, Lupo, Madec 2018). Néanmoins, nous avons choisi ce seuil pour discriminer les bactéries présentant une excellente sensibilité de celles dont la sensibilité est diminuée. Par souci de clarté, ce second groupe est appelé « résistant » dans la suite de ce travail.

D'après nos résultats, 89 souches (93,7%) sont considérées comme sensibles et 6 (6,3%) comme résistantes avec la valeur-seuil de 0,12 µg/mL préconisée par le CLSI. Les 6 souches au-dessus de 0,12 µg/mL avaient toutes la même valeur - très proche du seuil - de 0,125 µg/mL à l'exception d'une valeur à 0,19 µg/mL.

Tableau 7 : Valeurs de CMI de 95 souches de *S. uberis* vis-à-vis de la benzylpénicilline données par Etest® et provenance de chaque cas (production personnelle, 2024).

Provenance (clinique)	CMI (µg/mL)				
Saint-Flour	0,125	0,023	0,064	0,012	0,023
	0,064	0,016	0,016	0,016	0,016
	0,008	0,125	0,047	0,012	0,064
	0,025	0,023	0,125	0,012	0,064
	0,016	0,012	0,047	0,016	0,032
	0,032	0,002	0,016	0,006	0,064
	0,064	0,047	0,006	0,094	0,008
	0,012	0,032	0,047	0,016	0,032
	0,008	0,012	0,023	0,094	0,008
	0,016	0,016	0,032	0,016	
	0,023	0,047	0,002	0,023	
	0,006	0,047	0,004	0,016	
	0,006	0,032	0,002	0,002	
	0,016	0,004	0,006	0,047	
	0,023	0,023	0,032	0,032	
Riom-ès-Montagnes	0,023	0,032	0,19	0,064	0,023
	0,012	0,047	0,003	0,006	0,023
Valleiry	0,032	0,016	0,094	0,08	0,025
	0,025	0,016	0,094	0,19	0,094
	0,012	0,016	0,032	0,064	0,125
	0,125				

Légende : Les valeurs supérieures au seuil du CLSI sont en rouge.

Sur les 16 valeurs provenant de Valleiry, 3 (18,8%) sont au-dessus du seuil contre 0% pour Riom-ès-Montagnes et 4,9% pour Saint-Flour.

Parmi l'ensemble des souches dont la valeur de CMI vis-à-vis de la pénicilline G a été déterminée, le protocole a été arrêté prématurément pour plusieurs cas dont le résultat de guérison bactériologique n'est pas connu et qui sont donc exclus du modèle de régression logistique.

## ii. Analyse statistique

La corrélation entre les CMI données par la méthode de référence Etest® et la guérison bactériologique des cas est évaluée par un modèle de régression logistique. Pour ce faire, 64 cas, non nécessairement chroniques, ont été inclus car ils bénéficient d'un résultat de CMI ainsi que de guérison bactériologique après traitement à base de pénicilline G.

Il apparaît que le modèle de régression logistique a une p-value de 0,591. On attend une valeur inférieure à 0,05 pour pouvoir conclure à la corrélation entre deux variables. La p-value obtenue dans notre cas est largement supérieure à 0,05 et indique que le modèle n'est pas statistiquement significatif, et suggère l'absence de corrélation entre les deux variables.

## C. Résultats donnés par Mastatest®

### i. Résultats étiologiques

#### 1. Analyse descriptive

De la même manière que pour les données de CMI Etest®, nous avons pu intégrer des données provenant de cas *in fine* écartés de l'étude mais ayant donné lieu à une identification bactérienne. Nous avons actuellement 95 résultats étiologiques donnés par le Mastatest® pour des souches préalablement caractérisées comme *S. uberis* par la méthode des géloses. Seules 32 de ces souches proviennent de cas qui sont allés jusqu'au bout sur l'aspect comparatif des protocoles thérapeutiques ; nombreux sont ceux qui n'étaient pas caractérisables comme chroniques selon notre définition. Nous ne pouvons donc pas ici considérer que nous parlons uniquement de cas chroniques.

Sur un total de 95 isolats identifiés en culture pure grâce à la méthode des géloses comme étant des souches de *Streptococcus uberis* et pour lesquels l'identification par Mastatest® a été également effectuée, 70 ont été correctement identifiés comme tels par Mastatest® soit 73,7%. En considérant l'identification par la méthode des géloses comme référence, Mastatest® a identifié à tort une majorité de « Autre Gram + » (9,5%), puis de « Autre streptocoque » (8,4%) (Figure 8).

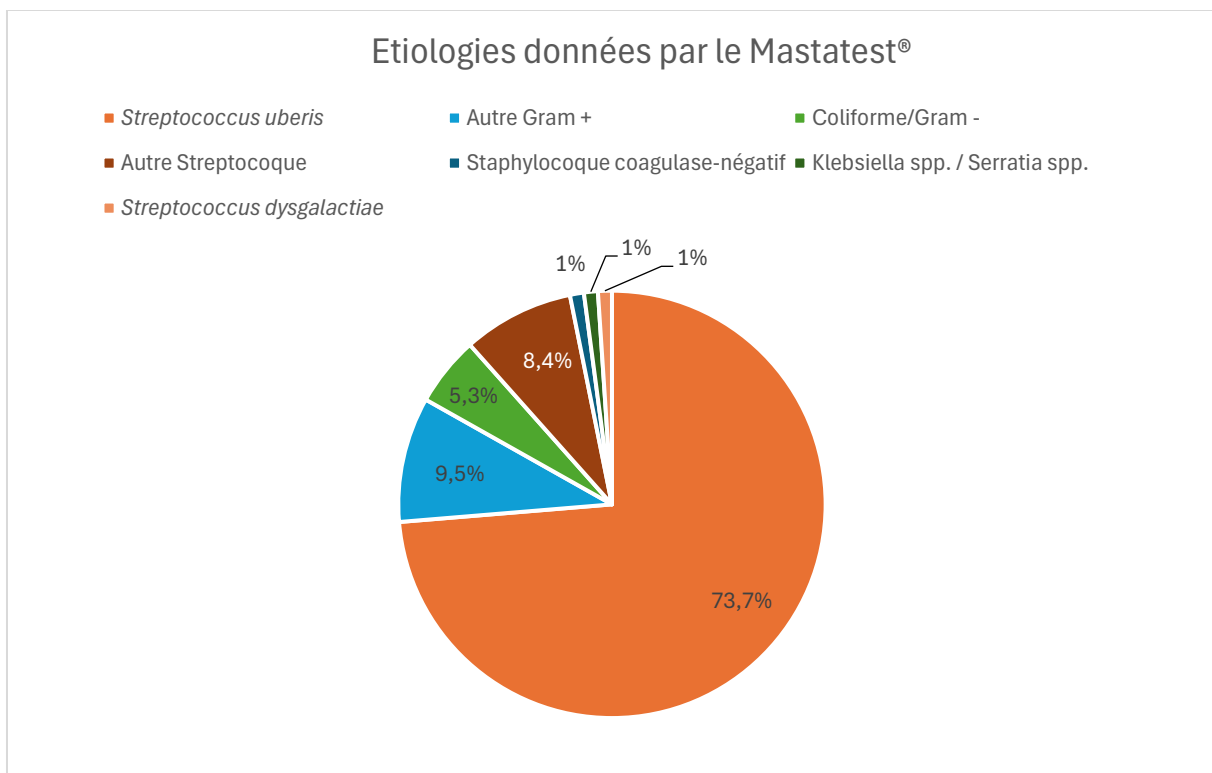


Figure 8 : Diagramme camembert présentant les résultats étiologiques donnés par le Mastatest® sur des souches identifiées comme *Streptococcus uberis* par la méthode des géloses (production personnelle, 2024).



## 2. Analyse statistique

Le coefficient kappa de Cohen est utilisé pour évaluer la fiabilité d'un diagnostic par comparaison avec une méthode de référence (McHugh 2012). Il prend en compte non seulement le pourcentage d'accord entre les deux méthodes mais aussi la probabilité d'accord aléatoire. Dans notre cas, le coefficient kappa calculé est de 0,47 ce qui est usuellement considéré comme un accord modéré (Landis, Koch 1977) (Figure 9). Ce coefficient ne concerne que l'identification de *Streptococcus uberis* par le Mastatest® et non ses performances globales.

	Bactériologie sur géloses	Mastatest®
<i>Streptococcus uberis</i>	95	70
Autre	0	25
Formule de calcul du coefficient kappa de Cohen :	$\kappa = \frac{\text{Pr}(a) - \text{Pr}(e)}{1 - \text{Pr}(e)}$	
Pr(a)	Pr(e)	κ
0,736842105	0,5	0,47368421

Figure 9 : Calcul du coefficient kappa de Cohen à partir des résultats d'identification bactérienne du Mastatest®, vis-à-vis de la méthode de référence sur géloses (production personnelle via Microsoft Excel®, 2024). Pr(e) est la proportion d'accord entre les deux méthodes, et Pr(a) est la probabilité d'accord aléatoire.

### ii. CMI vis-à-vis de la benzylpénicilline

#### 1. Analyse descriptive

Sur l'ensemble des 74 souches pour lesquelles la CMI a pu être testée par Mastatest, que l'identification bactériologique soit reconnue avec succès par l'appareil comme *Streptococcus uberis* ou non, les CMI données se classent selon différents seuils : 44 échantillons donnent une valeur inférieure ou égale à 0,05 µg/mL ; 22 souches ont une CMI située entre 0,05 et 0,1 µg/mL. Enfin, la CMI est supérieure à 0,1 µg/mL mais inférieure à 0,5 µg/mL pour les 8 isolats restants (Tableau 8).

D'après ces résultats, 66 souches (89,2%) sont considérées comme sensibles et 8 (10,8%) comme résistantes avec la valeur-seuil de 0,1 µg/mL, qui est parmi les seuils dont nous disposons la valeur la plus proche de celle préconisée par le CLSI.

Tableau 8 : Valeurs de CMI de 74 souches de *S. uberis* vis-à-vis de la benzylpénicilline données par Mastatest® et provenance de chaque cas (production personnelle, 2024).

CMI (µg/mL)	≤ 0,05	0,05 < x ≤ 0,1	0,1 < x ≤ 0,5
Provenance			
Saint-Flour	36	18	2
Riom-ès-Montagnes	5	1	0
Valleiry	3	3	6

## 2. Analyse statistique et comparaison avec Etest®

Nous avons choisi, pour l'évaluation de la sensibilité et de la spécificité des valeurs de CMI données par le Mastatest®, de raisonner avec le seuil de sensibilité du CLSI. En effet, l'intérêt principal d'une mesure de CMI est de déterminer si la souche bactérienne est sensible ou non à l'antibiotique testé. De plus, la méthode Etest® et le Mastatest® donnent des résultats qui ne peuvent pas directement se comparer.

On considère donc qu'une valeur Etest® supérieure à 0,12 µg/mL et une valeur Mastatest® supérieure à 0,1 µg/mL caractérisent la souche comme présentant une sensibilité diminuée à la pénicilline G. Le calcul est ainsi effectué avec des souches données soit sensibles (résultat « négatif »), soit résistantes (résultat « positif »).

Il y a 64 souches de *S. uberis* pour lesquelles la CMI a été mesurée par Etest® et via Mastatest®. Pour 57 de ces souches soit 89,1%, les deux méthodes donnent le même résultat (54 sensibles et 3 résistantes). Parmi les autres valeurs, 5 souches sont considérées par le Mastatest® comme ayant une CMI supérieure à 0,1 µg/mL alors que la mesure Etest® les classe comme sensibles. Inversement, 2 souches sont considérées par le Mastatest® comme sensible à la pénicilline alors que leur CMI par Etest® est de 0,125 µg/mL.

Ces données permettent de calculer la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative du résultat (sensible ou résistant) donné par le Mastatest® (Monaghan et al. 2021). Ces valeurs figurent dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Sensibilité, Spécificité, Valeur Prédictive Positive et Valeur Prédictive Négative de la CMI de *Streptococcus uberis* vis-à-vis de la benzylpénicilline donnée par Mastatest® (production personnelle, 2024).

Sensibilité	71,4%
Spécificité	91,5%
Valeur Prédictive Positive	50%
Valeur Prédictive Négative	96,4%

#### D. Comptages cellulaires somatiques individuels post-traitement

Les résultats des CCSI post-traitement sont donnés dans le Tableau 10. Les vaches pour lesquelles la guérison bactériologique a été objectivée (bactériologies sur lait à 14 et 21 jours après la fin du traitement négatives) ont une moyenne de CCSI sur les deux mois post-traitement de 231 000 cellules/mL [106 000 – 356 000].

Les vaches n'ayant pas guéri au terme du traitement (*Streptococcus uberis* en culture pure mis en évidence sur au moins une bactériologie à 14 ou 21 jours post-traitement) ont une moyenne de CCSI sur les deux mois post-traitement de 2 438 000 cellules/mL [802 000 – 4 075 000].

Pour 8 vaches guéries (36,4% des cas guéris pour lesquels les données de CCSI post-traitement sont disponibles), au moins un CCSI post-traitement était supérieur à 200 000 cellules/mL malgré l'objectivation de la guérison bactériologique vis-à-vis de *S. uberis*.

Pour 2 vaches non guéries (20% des cas non guéris pour lesquels les données de CCSI post-traitement sont disponibles), au moins un CCSI post-traitement était inférieur à 200 000 cellules/mL malgré l'objectivation de la non-guérison bactériologique.

Tableau 10 : Moyenne et intervalle de confiance à 95% des CCSI post-traitement considérant différents groupes (production personnelle, 2024).

	Moyenne des CCSI post-traitement
Protocole A	1 418 000 [225 000 ; 2 612 000]
Protocole B	546 000 [174 000 ; 918 000]
Vaches guéries	231 000 [106 000 ; 356 000]
Vaches non guéries	2 438 000 [802 000 ; 4 075 000]

### III. Discussion et perspectives

Tous les cas inclus dans cette étude ont reçu le traitement complet. Les abandons en cours de traitement étaient tous dus à un oubli de l'éleveur (mauvais traitement ou oubli du prélèvement de lait). Ces cas ont donc été exclus de l'étude. Nous avons été attentifs à considérer la possibilité que des éleveurs abandonnent un protocole, notamment le protocole B, car trop contraignant ou à l'origine d'effets secondaires indésirables (injections intra-musculaires). Un défaut d'observance pour une de ces raisons nous aurait amené à les considérer dans cette étude, mais aucun ne nous a été rapporté.

## A. Biais et limites éventuels

### i. Effectif

Ce travail donne un aperçu des résultats attendus lorsque les effectifs complets auront été inclus dans l'étude. Les résultats disponibles à ce jour ne sont pas encore statistiquement significatifs et ne permettent pas de conclure (Herr, Descatha, Aegerter 2017). En effet, les intervalles de confiance à 95% des moyennes d'efficacité pour les deux protocoles sont [22,6% ; 71,6%] (protocole A) et [58,6% ; 93,7%] (protocole B). Ils se recoupent, et l'intervalle de confiance à 95% de la moyenne des efficacités est [- 3,45 ; 61,65] qui n'est donc pas strictement supérieur à 0. Ce constat était prévisible puisque les cas inclus dans ce travail ne représentent pas les effectifs finaux. Cela sera à terme corrigé par l'inclusion du nombre de cas suffisant indiqué pour pouvoir être statistiquement significatif.

Néanmoins, l'écart entre la moyenne d'efficacité des deux traitements est de 29,1%, ce qui est déjà conséquent. Il sera intéressant pour la suite d'inclure le plus de cas possible afin d'augmenter la puissance statistique de l'étude. On pourra ainsi réduire les intervalles de confiance de manière à démontrer l'écart qui existe entre l'efficacité respective des deux traitements. L'ambition est de prouver la plus grande supériorité possible du protocole B sur le protocole A en termes d'efficacité sur la guérison bactériologique, pour permettre de mettre en balance et de dépasser les désavantages au regard de considérations qui ne sont pas uniquement cliniques (économique et pratique notamment).

Le fait que les vaches de l'étude viennent d'élevages qui peuvent différer par leur conduite, leur niveau de technicité, leurs dominantes pathologiques entre autres facteurs, constitue un biais. En effet, ces vaches ne vivent pas strictement dans les mêmes conditions. Il pourrait être intéressant pour des travaux ultérieurs de tenter de mettre en évidence d'éventuels facteurs de confusion. La répartition aléatoire des cas est cependant conçue pour gommer au maximum ces différences, et dans notre étude les informations recueillies présentent l'avantage de mieux renseigner sur les tendances au sein d'un territoire entier.

### ii. Choix du protocole

#### 1. Détermination de la chronicité

Une des principales sources de discussion autour des protocoles choisis pour cette étude repose sur le seuil de 14 jours pour différencier les mammites récentes des mammites chroniques. Tout comme en médecine humaine, la définition de la chronicité est vague et ne fait pas non plus l'objet de consensus en ce qui concerne les mammites de la vache. Parmi les travaux de recherche que nous avons étudiés pour déterminer nos protocoles, la plupart des valeurs diffèrent en termes de CCSI, de durée ou les deux. Plusieurs travaux concordent cependant sur le seuil de 200 000 cellules/mL pour les CCSI (Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016; Bonestroo et al. 2021; Schepers et al. 1997). En ce qui concerne la durée, le seuil de 14 jours correspond à la définition de la chronicité en médecine vétérinaire enseignée dans les écoles françaises. L'étude de Bonestroo et al. privilégie un seuil situé entre 3 et 4 semaines, soit

21 à 28 jours, pour définir une mammite « chronique » en constatant que les vaches qui n'ont pas retrouvé des CCSI normaux 3 à 4 semaines après le début de l'infection ont significativement moins de chance d'en retrouver par la suite (Bonestroo et al. 2021). Cependant, cette étude est basée sur les comptages cellulaires uniquement et ne donne aucun résultat de guérison bactériologique ; nous avons d'ailleurs constaté dans notre travail qu'une proportion non négligeable de sujets ayant guéri bactériologiquement continuaient à présenter des CCSI élevés dans les semaines après l'épisode de mammite, et inversement.

## 2. Identification bactériologique

Notre méthode de référence sur géloses pour l'identification bactériologique possède de très bonnes sensibilité et spécificité et n'a été effectuée dans le cadre de cette étude que par des opérateurs expérimentés. Néanmoins, cette méthode ne permet pas de discriminer *Streptococcus uberis* d'*Aerococcus viridans*, bactérie également Gram positive, catalase négative et esculinase positive qui a déjà été isolée sur du lait de mammite bovine (Sun et al. 2017; Devriese et al. 1999; McDonald, Fry, Deighton 2005; Schabauer, Titz, Ehling-Schulz 2014). Peu de publications existent sur l'importance de cet agent pathogène en termes de prévalence, de répartition, d'importance clinique et économique. Sa fréquence est présumée faible, à hauteur de 2% des bactéries initialement catégorisées comme *S. uberis* ou *Streptococcus* spp. (McDonald, Fry, Deighton 2005; Fortin et al. 2003). Si des travaux récents attirent l'attention sur l'émergence potentielle d'*Aerococcus viridans* (Sun et al. 2017; Špaková et al. 2012), son rôle en tant qu'agent primaire de mammites reste discuté (Devriese et al. 1999; Wyder et al. 2011). En France, la majorité des travaux étudiant la fréquence des agents étiologiques de mammites bovines ne le citent pas. Nous le considérons au titre de sa faible fréquence comme un agent pathogène mineur, contrairement à *S. uberis*, et supposons négligeable la proportion de bactéries *Aerococcus viridans* ayant pu être identifiées à tort comme *Streptococcus uberis*. Néanmoins, des travaux futurs sur la prévalence d'*A. viridans* dans le lait de vache en France pourraient venir remettre en cause ce postulat. La caractérisation des souches par des techniques plus précises de type PCR, MALDI-TOF, amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD) ou encore électrophorèse en champ pulsé (Oliveira et al. 2021; Sherwin et al. 2020; Baseggio et al. 1997; Wang et al. 1999; Zadoks et al. 2003; Oliver, Gillespie, Jayarao 1998) auraient permis d'éviter cette incertitude mais elles n'étaient pas à notre disposition pour cette étude.

## 3. Co-infections

Le constat du maintien de CCSI élevés pour des vaches dont la guérison est objectivée par l'absence de culture de *S. uberis* nous a interrogés. Nous pensons probable que les vaches concernées puissent avoir plusieurs quartiers infectés. Nous n'avons en effet procédé à l'identification bactériologique que sur le lait du quartier identifié par l'éleveur, ou dans certains cas le vétérinaire, comme étant infecté. Cela n'empêche nullement une infection subclinique concomitante dans un autre quartier. La principale conséquence de cette hypothèse pour notre étude est qu'elle remet en cause l'interprétabilité des CCSI au niveau de la vache (moyenne des quartiers) pré et post-traitement. En effet, notre interprétation de ces données est faussée s'il s'avère qu'une infection subclinique a lieu en même temps dans un autre quartier que celui que nous considérons. Concernant la chronicité de la mammite, on peut imaginer qu'une

augmentation chronique des CCSI de la vache soit due depuis longtemps à une infection subclinique dans un des quartiers et que l'infection à *S. uberis* soit en réalité plus récente ; notre caractérisation de cette infection comme chronique sur la base des CCSI de la vache serait alors erronée. De la même manière, une persistance de CCSI élevés après objectivation de la guérison bactériologique du quartier traité dans cette étude peut laisser penser qu'une infection reste en cours dans un autre quartier. Dans notre étude, la mise en évidence de la guérison repose uniquement sur une identification bactériologique et non sur les CCSI donc l'efficacité du traitement vis-à-vis de *S. uberis* est correctement objectivée, mais il existe un doute sur la nature réellement chronique de l'infection.

Nous avons cherché à évaluer la proportion de vaches ayant en réalité plusieurs quartiers infectés. Une étude de 1999 établit que pour des vaches dont le lait est testé 1 à 3 mois avant tarissement, lorsque le diagnostic bactériologique de mammite est positif, en moyenne 1,47 quartiers par vache ont un CMT positif (Osterås, Edge, Martin 1999). Cela suggère que l'infection concomitante de plusieurs quartiers d'une même vache est fréquente. Cependant, cette étude a lieu dans un contexte de mammites à staphylocoques majoritaires, ne prend pas en compte *S. uberis* et suggère même que le résultat pourrait être très différent dans un contexte de mammites à streptocoques majoritaires.

En 2001, une autre étude trouve des co-infections dans 13,1% des quartiers infectés par des agents pathogènes usuels de mammites bovines (Zadoks et al. 2001). Cependant là encore, *S. uberis* ne figure pas parmi les agents pathogènes inclus dans ce résultat.

En 2004, l'étude de McDougall et al. confirme comme extrêmement fréquent l'isolement d'agents pathogènes sur plus d'un quartier d'une même vache. Pour un des troupeaux de l'étude, c'est en moyenne près de 2,5 quartiers sur 4 qui sont infectés par une bactérie (McDougall et al. 2004).

Condas et al. reportent en 2017 avoir isolé des souches de *S. aureus* de 1152 quartiers de 885 vaches (proportion : 1,3 quartiers par vache), et *S. uberis* sur 253 quartiers de 232 vaches (proportion : 1,1 quartier atteint par vache). Des données identiques sont disponibles pour *S. dysgalactiae* et *Klebsiella* spp., pour lesquels les ratios de quartiers infectés par vache sont respectivement de 1,14 (215/189) et 1,1 (148/135) (Condas et al. 2017). Ces résultats informent sur le nombre moyen de quartiers contaminés par une même espèce bactérienne mais pas sur les dynamiques de co-infection de la mamelle par différents agents pathogènes.

Il pourrait être intéressant de mener de nouveaux travaux pour caractériser les infections mammaires touchant plusieurs quartiers, en termes de proportion des vaches atteintes et d'agents pathogènes impliqués. De plus, il pourrait être pertinent pour de futures études de vérifier qu'aucun autre quartier que celui prélevé n'est atteint de mammite subclinique, par la réalisation d'un CMT sur l'ensemble des quartiers par exemple.

### iii. Représentativité de l'échantillon

La parité observée est de 74% des vaches à 3 lactations et plus sur l'ensemble des cas inclus. Ce chiffre est relativement élevé, d'autant que les vaches dont la parité est largement supérieure à 3 ne sont pas rares même si le détail individuel n'est pas connu dans cette étude.

Ce constat contraste avec les moyennes constatées dans des territoires où l'élevage est plus intensif. En France, la durée moyenne de vie productive des vaches laitières est en chute. Elle

est passée de près de 4 ans dans les années 1970 à moins de 2 ans en 2018. Dans le monde, des différences notables sont observées ; la Nouvelle-Zélande a réussi dans les dernières décennies à augmenter fortement sa moyenne de longévité des vaches laitières, qui se situe à 5,5 années de production en 2018. Cependant, pour la majorité des autres pays dont les Etats-Unis, l'Allemagne, l'Irlande, cette moyenne se situe entre 3 et 4 années voire au-dessous de 2 années, à l'instar de la France, pour le Canada et le Brésil (Dallago et al. 2021).

La longévité des vaches incluses dans notre étude s'explique par le fait que la majorité des cas (88% sur toute l'étude) ont été collectés dans le département du Cantal, où les cahiers des charges des différents AOP fromagers (Saint-Nectaire, Cantal, Salers majoritairement) imposent un mode d'élevage plus extensif et des productions laitières moindres. Le cahier des charges du Saint-Nectaire AOP stipule notamment que la période de pâturage doit représenter minimum 160 jours par an durant lesquels tout affouragement en vert est interdit. En dehors de cette période, l'herbe distribuée sous forme de fourrage sec avec un taux de matière sèche supérieur à 80 % doit représenter quotidiennement au moins 50 % de la ration de base des vaches laitières (en matière sèche). Les fourrages fermentés sont interdits dans l'alimentation des vaches laitières. Le seul fourrage conservé autorisé est l'herbe distribuée sous forme de fourrage sec avec un taux de matière sèche supérieur à 80 %. La complémentation est limitée : l'ensilage de maïs est notamment interdit (Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt 2017). La longévité constatée peut s'expliquer par le fait que les AOP fromagères fonctionnent avec un niveau de production peu élevé et une complémentation énergétique très limitée qui sont associés à nettement moins de troubles métaboliques (acidose, cétose), lesquels participent de manière avérée à une plus grande sensibilité des animaux à d'autres pathologies qui peuvent entraîner leur réforme (Gröhn 2000). De plus, ces AOP garantissent une meilleure rémunération des éleveurs et permettent de garder plus longtemps des vaches dont le potentiel laitier ou les capacités reproductrices ne seraient pas considérés comme économiquement optimaux dans d'autres systèmes.

La représentativité de l'échantillon est dépendante du type d'élevage associé aux territoires sur lesquels l'étude a été menée, ce qui explique dans notre cas une parité moyenne élevée.

Un âge plus avancé des vaches de cette étude pourrait être à l'origine d'un moindre succès en terme de guérison bactériologique, puisque l'on sait qu'un âge élevé diminue les chances de guérison en cas d'infection mammaire (Schukken et al. 2003; McDougall et al. 2007; Deluyker, Van Oye, Boucher 2005). Par rapport à la littérature, les proportions de guérison bactériologique (moyenne de 47,1% pour le protocole A et 76,2% pour le protocole B) constatées dans cette étude sont effectivement assez basses (l'estimation *a priori* des moyennes était de 60% et 85% environ, respectivement). Cependant, les études utilisées pour cette estimation ne caractérisent que rarement les cas comme chroniques ; sachant que la durée d'évolution de l'infection influence grandement les chances de guérison bactériologique, nous ne pouvons donc pas conclure que c'est l'âge des vaches qui est à l'origine de la différence constatée dans cette étude.

Les races incluses dans cette étude sont représentatives des principales races laitières retrouvées en France, qui sont en 2021 la Prim'Holstein (2 267 000), la Montbéliarde (594 000) et la Normande (282 000) (Institut de l'Elevage, Confédération Nationale de l'Elevage 2022).

La majorité des vaches participant à cette étude sont issues de troupeaux comprenant 50 à 150 vaches laitières. Ce chiffre est relativement représentatif de la taille des troupeaux laitiers à l'échelle nationale : en 2021, 59% des exploitations françaises élevant plus de 10 vaches laitières en détenaient entre 20 et 149, seulement 4% des exploitations françaises élevant 150 vaches laitières et plus (Institut de l'Elevage, Confédération Nationale de l'Elevage 2022).

#### iv. Limites du protocole combiné

Pour préciser encore l'écart entre les deux protocoles en termes de guérison bactériologique, il serait utile de réitérer cette expérience sur un effectif plus grand. L'étendre à d'autres régions et systèmes d'élevage est également pertinent. Avec 29,1% de différence entre les moyennes de guérison bactériologique qui sont respectivement de 47,1% et 76,2% pour les protocoles A et B, le meilleur succès du traitement combiné est évident dans cette étude. Des désavantages l'accompagnent cependant : ce protocole revient non seulement plus cher à l'éleveur mais entraîne également une consommation d'antibiotiques démultipliée. Ces aspects sont détaillés dans les paragraphes ii. et iii. de la partie III. C. Du temps et de la main d'œuvre (contention) supplémentaires sont en outre nécessaires pour réaliser les injections intra-musculaires en ferme, lesquelles sont susceptibles d'entraîner une douleur modérée passagère pour l'animal.

L'intérêt de poursuivre et par la suite réitérer cette expérience est donc certain, car la légitimité de l'application systématique du protocole B reste à asseoir au regard des désavantages qui l'accompagnent.

#### B. Interprétation et pistes d'explication des résultats

##### i. Guérison bactériologique

Les moyennes de guérison du protocole A et du protocole B sont de 47,1% [22,6% ; 71,6%] et 76,2% [58,6% ; 93,7%], respectivement. L'intervalle de confiance à 95% de la moyenne de la différence entre les deux traitements est [- 3,45 ; 61,65]. Ces résultats, bien que manquant de poids statistique, semblent montrer de nettement meilleures chances de guérison avec le protocole combiné. L'alliance du pénéthamate par voie parentérale (intra-musculaire) avec la pénicilline G par voie intra-mammaire est un abord thérapeutique pertinent des mammites à *S. uberis*. Ce constat concorde avec les résultats d'études antérieures (Salat et al. 2008; Svennesen et al. 2023; StRose et al. 2003). Les résultats obtenus dans cette étude mettent de plus en évidence le manque d'efficacité d'un protocole comportant seulement des injections intra-mammaires à base de pénicilline G. Cette approche a pourtant largement fait ses preuves sur des mammites non caractérisées comme chroniques (Svennesen et al. 2023; Kalmus et al. 2014; Pyörälä 2009; Wilson et al. 1999).

La chronicité de l'infection semble donc avoir un impact net sur les chances de guérison bactériologiques. Les principales causes sont les propriétés de *Streptococcus uberis* qui est un agent pathogène potentiellement intracellulaire possédant de nombreux facteurs de virulence (cf. première partie de ce travail), la réaction immunitaire de la mamelle et les propriétés des antibiotiques utilisés.

##### 1. Réaction de la mamelle chroniquement infectée

Si les capacités de l'agent pathogène à résister à l'élimination par le système immunitaire jouent un rôle majeur dans le passage à la chronicité, les transformations ayant lieu dans la mamelle



infectée ont également une importance cruciale dans les chances de succès du traitement. L'immunité innée joue un rôle particulier puisqu'il s'agit de la première réponse de l'organisme, celle qui génère la réaction inflammatoire. Le fait que les infections streptococciques résultent parfois en une induration de la mamelle est connu de longue date (Hucker 1933).

Il a été montré que la réponse cellulaire d'une infection à *S. uberis* fait intervenir des polynucléaires neutrophiles en très grande quantité, mais ce sont les macrophages qui paraissent le plus efficaces pour phagocyter l'agent pathogène. Après 6 jours d'infection, une infiltration lymphocytaire est également rapportée avec de l'œdème, des nécroses alvéolaires focales et une hypertrophie de l'épithélium. Les conclusions de Thomas suggèrent qu'après 6 jours d'infection à *S. uberis*, des mécanismes irréversibles de fibrose et d'involution se mettent déjà en place (Thomas et al. 1994).

La fibrose est une des conséquences les plus fréquentes de phénomènes inflammatoires chroniques. Elle se définit par l'accumulation excessive de composants de la matrice extracellulaire comme le collagène et la fibronectine (Wynn, Ramalingam 2012). Chez les vaches ayant une mammite, on constate dans la mamelle des dommages tissulaires et une augmentation significative de la concentration de TGF- $\beta$ 1 ainsi que d'autres médiateurs de l'inflammation (Kan et al. 2022). TGF- $\beta$ 1 est un facteur de croissance largement impliqué dans le processus de fibrose via la prolifération et la différenciation cellulaires, la production de matrice extracellulaire et la régulation de la réponse immunitaire (Lodyga, Hinz 2020). La vimentine et l' $\alpha$ -SMA sont des protéines qui marquent également l'activation de la fibrose et sont retrouvées en quantités significativement augmentées dans les cellules épithéliales des vaches présentant une mammite (Kan et al. 2022). Ozguden-Akkoc et al. montrent également que la quantité de tissu connectif est fortement augmentée dans le quartier des vaches présentant une mammite, ce qui signe un processus de fibrose, et mettent en évidence une corrélation avec l'augmentation du nombre de mastocytes dans le tissu (Ozguden-Akkoc et al. 2023).

Le stress oxydatif, c'est-à-dire le déséquilibre des réactions d'oxydo-réduction cellulaires en faveur de l'oxydation et l'insuffisance de la capture des espèces oxydantes par les anti-oxydants de l'organisme, semble jouer un rôle prépondérant (Turk et al. 2017; Kan et al. 2022). La réponse inflammatoire entraîne le relargage d'espèces réactives de l'oxygène en grande quantité, lesquelles sont capables d'endommager les tissus (Sanz 2016). Tous les liens entre stress oxydatif et fibrose de la mamelle ne sont pas encore élucidés.

Du point de vue thérapeutique, la conséquence majeure de la fibrose est la difficulté pour les antibiotiques d'accéder au site. Le traitement est alors parfois inefficace, les infections persistent ou donnent l'impression de récidiver (Rémy 2010).

Il est désormais plus que probable que ce processus, identifié de longue date chez d'autres pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* en particulier, diminue nettement les chances de guérison des mammites chroniques à *S. uberis* en particulier lors d'administration intramammaire uniquement qui permettent une moins bonne diffusion à travers les tissus.

## 2. Propriétés des antibiotiques utilisés

Etant donnée la capacité de certaines souches de *S. uberis* à être internalisées au sein de cellules épithéliales mammaires, la pharmacodynamie et la pharmacocinétique des antibiotiques capable de lutter contre ces bactéries doivent être particulièrement adaptées. L'antibiotique de choix doit pouvoir se concentrer fortement dans le lait, ciblant ainsi les bactéries libres. Il doit

également pouvoir atteindre le compartiment intracellulaire dans lequel des bactéries parviennent à se loger et entretiennent la chronicité de l'infection. Le pénéthamate (Figure 10) est à ces deux égards plus performant que la benzylpénicilline (Figure 11) (Ziv, Storper 1985). Il a d'ailleurs été prouvé expérimentalement que le pénéthamate est capable de pénétrer dans les cellules épithéliales mammaires et de tuer les agents pathogènes bactériens sans affecter la viabilité des cellules mammaires (Almeida et al. 2007).

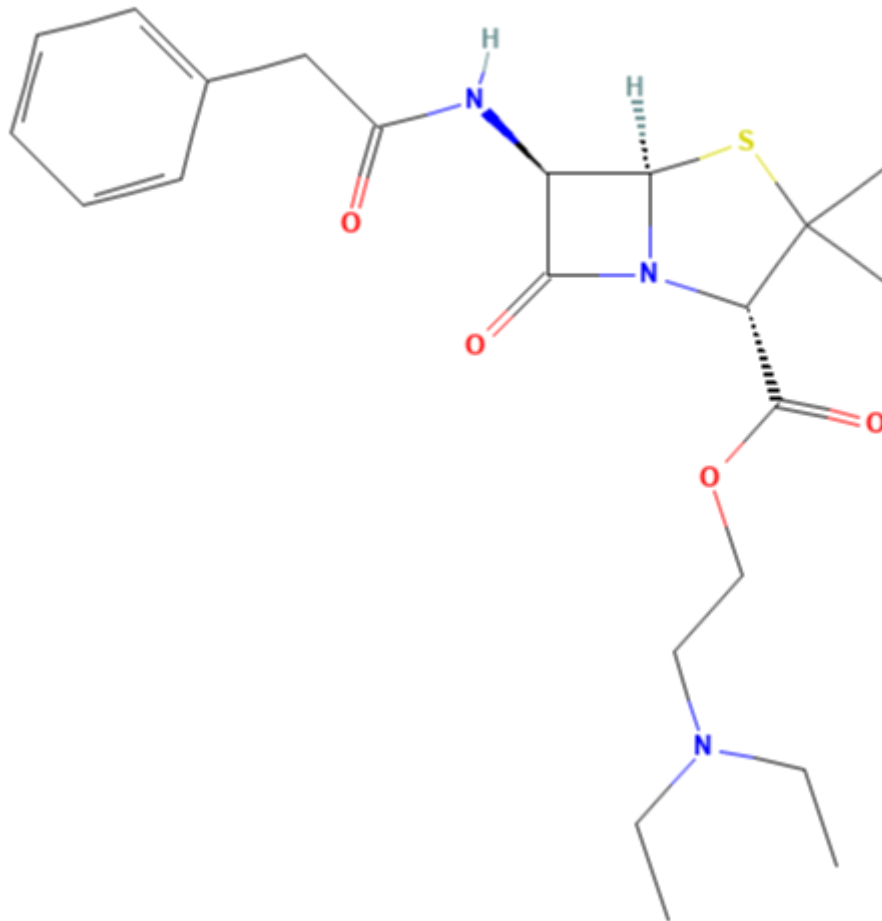


Figure 10 : Structure moléculaire en deux dimensions du pénéthamate (National Center for Biotechnology Information 2024a).

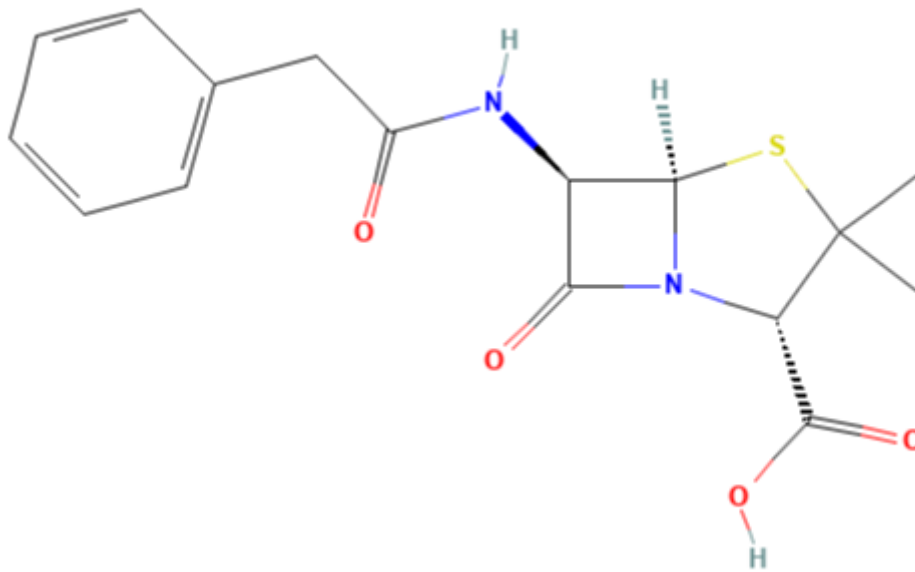


Figure 11 : Structure moléculaire en deux dimensions de la pénicilline G (National Center for Biotechnology Information 2024b).

Les deux paramètres principaux jouant sur ce constat sont la bonne liposolubilité de la forme non ionisée du pénéthamate ainsi que son pKa, de 8,5 ou 8,4 selon les publications (Rasmussen 1959; Almeida et al. 2007; Vandaële 2003; Ziv, Storper 1985). Les concentrations atteintes par sa forme non ionisée et la très bonne liposolubilité de celle-ci lui permettent de se distribuer aisément du compartiment sanguin au parenchyme mammaire et dans le milieu intracellulaire. La forme non ionisée est en effet bien plus liposoluble, c'est celle capable de diffuser passivement à travers les membranes cellulaires phospholipidiques (Ziv 1980a).

De plus, le gradient de pH entre les différents compartiments de l'organisme explique la répartition d'une molécule en fonction de son pKa. Une base faible sera présente en plus grande concentration dans le compartiment le plus acide, en l'occurrence le lait puisque son pH se situe entre 6,5 et 6,8 et celui du plasma entre 7,2 et 7,6 (Almeida et al. 2007; Rasmussen 1959). Inversement, la pénicilline G est un acide faible de pKa 2,7 ou 2,8 selon les publications (Rasmussen 1959; Almeida et al. 2007). Elle a donc le comportement opposé vis-à-vis de sa répartition entre le plasma et le lait : sa concentration dans le plasma est largement supérieure à celle dans le lait (Rasmussen 1959; Ziv 1980a). Aucune plus-value ne serait donc apportée par une injection intra-musculaire de pénicilline G (Waage 1997). De ce fait, lorsque ils sont administrés par voie parentérale, le ratio entre la concentration dans le lait et la concentration dans le plasma du pénéthamate est environ 55 fois supérieur à celui de la benzylpénicilline (Rasmussen 1959).

L'administration intra-mammaire de pénicilline permet en quelque sorte de court-circuiter l'étape nécessaire de diffusion du sang au lait lors d'injection parentérale, et ainsi d'atteindre de bien meilleures concentrations de la pénicilline dans le lait.

Malgré cela, la pénicilline administrée telle quelle reste un antibiotique extracellulaire (Rubens et al. 1992; Wilson, Jacobs, Smith 1982). C'est une molécule peu lipophile : la fonction acide

carboxylique à son extrémité est en effet fortement polaire, en particulier la double liaison carbone – oxygène. En tant qu'acide faible, elle restera majoritairement sous sa forme basique ionisée dans les compartiments de l'organisme dont le pH est largement supérieur à son pKa, et ne pourra donc pas franchir les membranes cellulaires. Le ratio entre la concentration de la forme basique et la concentration de la forme acide d'une molécule de pKa donné, dans un compartiment de l'organisme de pH donné, est calculable par une formule (Figure 12). Pour un pH entre 6,5 (lait) et 7,5 (plasma), la forme ionisée (basique) de la pénicilline est entre 63 000 fois et 6 300 fois plus présente que la forme non ionisée (acide). Pour le pénéthamate, ce ratio s'équilibre car même si la forme majoritaire (acide) est ionisée, elle ne représente plus que 10 à 100 fois la forme basique non ionisée.

$$\text{Partition: } \text{pH} = \text{pKa} + \log \left[ \frac{\text{Base}}{\text{Acide}} \right] \text{ soit } \left[ \frac{\text{Base}}{\text{Acide}} \right] = 10^{\text{pH} - \text{pKa}}$$

Figure 12 : Répartition des concentrations de la forme basique et de la forme acide d'une molécule en fonction de son pKa et du pH du compartiment (Alain-Bousquet Mélou, La distribution des médicaments, 2019).

La lipophilie plus importante de la molécule de pénéthamate, qui se trouve non ionisée dans les tissus de l'organisme à des concentrations bien plus élevées que celles de la forme non ionisée de la pénicilline G, expliquent sa capacité à pénétrer à l'intérieur des cellules contrairement à la benzylpénicilline.

Au cours de sa traversée du tissu mammaire, une partie du pénéthamate se dissocie en benzylpénicilline et diéthylaminoéthanol. La fraction restante du pénéthamate pénètre à l'intérieur des cellules épithéliales mammaires. Une fois à l'intérieur des cellules, il est rapidement ionisé en pénicilline G et devient ainsi un acide faible (Almeida et al. 2007; Ziv 1980b). Le pH du liquide intracellulaire est de 7 (Magder, Magder, Samoukovic 2021). Un acide faible de pKa 2,7 reste majoritairement sous forme ionisée dans ce compartiment ; il est donc incapable de traverser à nouveau les membranes cellulaires à cause de sa très faible liposolubilité sous cette forme et reste dans le compartiment (Almeida et al. 2007; Ziv 1980a). C'est le phénomène connu sous le nom de trappage ionique. De plus, c'est sous forme ionisée que la molécule est active et permet d'exercer l'effet antibiotique.

L'action de la benzylpénicilline est, comme tous les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines, bactéricide et temps-dépendant. Le noyau bêta-lactame inactive une transpeptidase chargée de lier entre elles des molécules de peptidoglycane, constituants de la paroi bactérienne, et empêche ainsi la synthèse de celle-ci (Goldberg 1959).

Pour résumer, les caractéristiques des deux molécules utilisées sont particulièrement complémentaires puisque le pénéthamate est bien plus présent sous sa forme non ionisée (base faible liposoluble) que ne l'est la pénicilline, se distribue très bien du sang au lait et diffuse dans le milieu intracellulaire. Il devient au sein des cellules un acide faible, la pénicilline G, qui reste majoritairement intracellulaire et possède l'activité antibiotique permettant de tuer les bactéries. De plus, la benzylpénicilline administrée par voie intra-mammaire présente dans le lait y reste car elle est trop polaire pour passer les membranes cellulaires. Elle élimine ainsi efficacement les bactéries libres dans le lait.

## ii. Comptages cellulaires post-traitement

On observe une moyenne des CCSI post-traitement de 231 000 cellules/mL [106 000 ; 356 000] pour les vaches ayant guéri contre 2 438 000 [802 000 ; 4 075 000] pour les vaches non-guéries. Cette moyenne, significativement plus faible lors de guérison du cas, concorde avec de nombreuses observations antérieures ; certaines études utilisent d'ailleurs même uniquement les CCSI pour évaluer la guérison (Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016; de Haas et al. 2004).

Certains cas sont néanmoins surprenants puisque des vaches ayant guéri de leur infection à *S. uberis* continuent à présenter au moins un CCSI élevé après traitement. On pourrait se demander si selon le délai entre la fin du traitement et le moment du prélèvement, une certaine latence pourrait exister qui expliquerait la persistance de facteurs de l'inflammation.

Cependant, une explication assez vraisemblable déjà détaillée au paragraphe III. A. ii. b. serait celle de co-infections existant au sein de différents quartiers de la même vache. En apparence, les comptages cellulaires ne diminuent donc pas alors que le quartier auquel on s'intéresse a guéri ; mais rien ne garantit dans notre protocole qu'un autre quartier ne soit atteint d'une mammites subclinique (partant du principe qu'une mammites clinique serait remarquée par l'éleveur) et donc à l'origine d'une augmentation des CCSI.

## iii. Sensibilité de *S. uberis* vis-à-vis de la pénicilline G, corrélation de la CMI et de la probabilité de guérison bactériologique

Ce travail ne met en lumière que très peu de résistance *in vitro* de *S. uberis* à la pénicilline G : 93,7% des souches sont données sensibles par la méthode Etest®, avec une CMI moyenne de 0,0375 µg/mL [0,0297 ; 0,0453]. Les souches considérées comme résistantes présentent une CMI qui n'est que très légèrement supérieure au seuil du CLSI de 0,12 µg/mL. Ce résultat concorde avec ceux d'études précédentes réalisées en France (Haenni, Madec 2010; Bareille, Leboeuf, Lequeux 2014; Haenni, Lupo, Madec 2018). Comme expliqué dans les paragraphes ci-dessus et constaté par d'autres auteurs, nos conclusions suggèrent que les causes des échecs de traitement des mammites chroniques à *S. uberis* en France se situent ailleurs que dans une éventuelle antibiorésistance (Barlow 2011).

Le modèle de régression logistique utilisé pour tenter de mettre en évidence une corrélation entre la valeur de CMI vis-à-vis de la pénicilline G d'une souche de *Streptococcus uberis* et la probabilité de guérison bactériologique n'est pas adapté. En effet, la p-value de ce modèle est de 0,591. Elle représente la probabilité de se tromper en rejetant l'hypothèse nulle du modèle, qui serait que la CMI n'a aucun effet sur la guérison bactériologique. Dans notre cas, cela signifie qu'on aurait 59,1% de chances de se tromper en concluant à l'existence d'une corrélation entre ces deux paramètres, ce qui est très important.

Nous concluons donc à l'absence de preuve d'une influence de la valeur de CMI sur la guérison bactériologique du cas et à une très probable absence de corrélation entre ces deux variables.

#### iv. Fiabilité du Mastatest®

##### 1. Identification bactériologique de *Streptococcus uberis*

Le Mastatest® a identifié comme *Streptococcus uberis* 73,7% des souches isolées de lait de mammite et préalablement identifiées par la méthode de référence. Le coefficient kappa de Cohen associé est de 0,47. Il témoigne d'une concordance très correcte puisque l'on considère usuellement un résultat excellent à partir de 0,8.

Pour autant, il faut prendre en compte que le coefficient kappa est particulièrement adapté à des situations binaires. Dans notre situation, une simplification est effectuée de manière à considérer que le résultat serait binaire (*Streptococcus uberis* ou non) avec une population présélectionnée constituée uniquement de souches de *S. uberis*. Ce biais fait apparaître comme très grande la probabilité d'accord aléatoire et diminue donc la valeur calculée du coefficient. On ne prend donc pas en compte le fait que le Mastatest® est capable de donner tout un panel de résultats différents, et on ne considère pas non plus l'impact des différentes réponses données sur le choix de traitement. On peut donc penser que le coefficient kappa de Cohen n'est pas réellement adapté à notre situation et considérer que la valeur calculée de 0,47 sous-estime la pertinence du diagnostic du Mastatest®.

De plus, l'intérêt d'une identification bactériologique est *in fine* le choix d'un protocole thérapeutique adapté. En considérant que le traitement de première intention de la plupart des mammites à bactérie Gram positive est centré sur la pénicilline G, on s'aperçoit que le Mastatest® donne fréquemment un résultat qui orienterait vers le même traitement de première intention. C'est notamment le cas des résultats « Autre streptocoque » (8,4% des cas) et *Streptococcus dysgalactiae* (1%).

On peut donc considérer que la fiabilité du Mastatest® dans l'identification de *Streptococcus uberis* est très correcte, en particulier en tenant compte du fait que le but premier de l'identification bactériologique est d'adapter le traitement antibiotique à un certain type d'agent pathogène.

##### 2. Mesure de CMI de *Streptococcus uberis* vis-à-vis de la benzylpénicilline

La sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positive et négative du Mastatest® quant à la résistance à la pénicilline G des souches de *S. uberis* sont respectivement de 71,4%, 91,5%, 50% et 96,4%. Ces résultats sont hétérogènes : ils sont excellents pour la spécificité et la valeur prédictive négative, mitigés pour la sensibilité et la valeur prédictive positive. Cependant, cette hétérogénéité s'explique.

En effet, bien que la sensibilité et la spécificité soient des caractéristiques intrinsèques du test, elles dépendent également de l'échantillon dans lequel elles sont mesurées. Quant aux valeurs prédictives positive et négative, il est encore plus largement admis qu'elles varient en fonction de la proportion dans la population du caractère recherché (Leeflang, Bossuyt, Irwig 2009). Dans notre étude, seulement 5 souches sont objectivées comme résistantes par la méthode de référence, contre 59 souches sensibles. La très faible proportion de souches résistantes diminue

de fait la valeur prédictive positive, ce qui explique le chiffre de 50% seulement (Monaghan et al. 2021). Notre échantillon contenant très peu de bactéries résistantes est également propice à une diminution de la sensibilité et à une augmentation de la spécificité calculées. Ce constat n'est techniquement pas considéré comme un biais car l'erreur n'est pas méthodologique, mais il explique en partie la sensibilité de 71,4%.

L'intérêt d'une mesure de CMI dans un cadre thérapeutique est de pouvoir mettre en place une antibiothérapie pertinente. La valeur prédictive négative donnée par le Mastatest® quant à la sensibilité de *S. uberis* à la benzylpénicilline est excellente, à 96,4%. Cela signifie que lorsque l'appareil donne une souche comme sensible, le pourcentage d'erreur est très faible et l'antibiothérapie à base de pénicilline a de très grandes chances d'être adaptée. Sur le terrain, les souches de *Streptococcus uberis* sont effectivement en très grande majorité sensibles à la benzylpénicilline (cf. première partie de ce travail).

Au regard de ces éléments, nous considérons donc que la valeur de CMI vis-à-vis de la pénicilline G donnée par le Mastatest® est un outil très pertinent dans le choix de traitement d'une mammite à *Streptococcus uberis*.

### C. Applications de ces résultats dans la pratique des vétérinaires et des éleveurs

#### i. Traitement préconisé

Cette étude a pour but de déterminer le meilleur protocole thérapeutique adapté aux mammites chroniques à *Streptococcus uberis*, dont la guérison bactériologique est fréquemment difficile. L'ancienneté de l'infection, très facilement objectivable sur le terrain avec les données du contrôle laitier et les antécédents de l'animal, représente un point-clé sur lequel nous recommandons fortement aux praticiens de se baser pour adapter leur démarche thérapeutique (Samson, Schmitt, Gaudout, Schukken, et al. 2016). D'après nos résultats, une mammite chronique (CCSI supérieurs à 200 000 cellules/mL depuis plus de 14 jours) à *S. uberis* devrait orienter éleveurs et vétérinaires vers un allongement de la durée de traitement à 5 jours et un protocole combinant pénéthamate par voie parentérale (intramusculaire) et pénicilline G intra-mammaire. Les posologies de 600 mg de benzylpénicilline procaïnée par applicateur intra-mammaire, une fois par jour, en alternance avec une injection intramusculaire de 14,2mg/kg de pénéthamate une fois par jour sont celles que nous recommandons.

Naturellement, il est également nécessaire de mettre en place les règles d'hygiène et de prévention abordées en détail dans la première partie de ce travail. Il est inenvisageable économiquement et en terme de bonnes pratiques d'utilisation des antibiotiques de se baser uniquement sur une stratégie curative à base d'antimicrobiens pour lutter contre les mammites de manière générale.

#### ii. Intérêt économique du traitement

Dans cette étude, le coût n'était pas limitant puisque le traitement et les analyses étaient offerts aux éleveurs. Sur le terrain, l'ordre de grandeur du coût du traitement est de 36€ TTC pour un traitement intra-mammaire seul de 5 jours, et de 134€ TTC pour un traitement combiné (chiffres

de la clinique vétérinaire de Riom-ès-Montagnes à titre d'exemple, 2024). Considérant uniquement les médicaments, le protocole combiné est près de 3,7 fois plus coûteux que le traitement intra-mammaire seul ; cela peut constituer un frein pour les éleveurs, mais la plus-value en terme de guérison bactériologique doit être considérée car un échec thérapeutique fragilise le pronostic économique de l'animal.

La question économique est en effet primordiale dans le traitement des mammites à bactéries Gram +, bien plus susceptibles de passer à la chronicité que les infections causées par des agents pathogènes Gram - ; *S. uberis* ne fait pas exception et cause des mammites dont le passage fréquent à la chronicité est objectivé depuis longtemps (Zadoks et al. 2003). Les mammites chroniques favorisent la propagation du germe dans l'environnement et donc la survenue de nouvelles infections mammaires dans le troupeau. Même si c'est encore plus vrai pour les infections à staphylocoques et corynébactéries, le risque de nouvelles infections mammaires dans le troupeau imputables à la présence d'une vache chroniquement infectée par *Streptococcus uberis* est non négligeable : il est estimé que 0,003 [0,0007 – 0,0119] nouvelles infections surviennent par jour de mammite (Dalen et al. 2019). Cela signifie que pour une vache infectée pendant 6 mois, ce qui n'est pas rare dans le cas de mammite subclinique (Steenefeld, Swinkels, Hogeveen 2007), 0,13 à 2,14 autres infections surviennent qui seraient évitables si cette vache était guérie ou réformée. De plus, les mammites chroniques sont significativement associées à une altération des fonctions ovariennes et donc de la fertilité (Rahman et al. 2012), à une baisse de production laitière (Hadrich et al. 2018) et plus longtemps dure l'infection, plus la probabilité de guérison diminue (Bonestroo et al. 2021). D'après une étude de 2007 aux Pays-Bas, l'intérêt de traiter les mammites subcliniques chroniques à *Streptococcus uberis* en lactation devrait être déterminé au cas par cas ; il dépend de paramètres liés à la ferme (prix du lait écarté) et à l'individu dont la durée de l'infection et le stade de lactation. Notamment, on aura d'autant plus intérêt économiquement à traiter une infection qu'elle survient tôt dans la lactation ; mais en raison du lait écarté pendant la durée du traitement et le temps d'attente, il est moins profitable de traiter lorsque le prix du lait est élevé (Steenefeld, Swinkels, Hogeveen 2007).

### iii. Intérêt du traitement au regard de la lutte contre l'antibiorésistance

Les deux protocoles proposés dans cette étude utilisent un antibiotique de première intention ciblant précisément l'agent pathogène préalablement identifié, selon les recommandations de l'European Medicines Agency, avec une durée de traitement adaptée à l'ancienneté connue de l'infection. L'identification bactériologique du germe, *a minima* une dichotomie Gram + ou Gram -, est primordiale pour être capable de restreindre le spectre antibiotique de manière pertinente. Bates et al. comparent en 2020 la quantité d'antibiotique utilisée en traitant immédiatement les vaches déclarant une mammite ou en attendant le résultat d'identification bactériologique donné par Mastatest® : dans le second cas, la quantité d'antibiotique utilisée est diminuée de 24% en moyenne [12 - 47%] (Bates et al. 2020).

Pour une vache dont le poids moyen est estimé à 600 kg, la quantité quotidienne de pénéthamate administrée dans le respect du RCP du Permacyl® est de 8520 mg, tandis qu'elle est de 600 mg par quartier pour la voie locale. La voie parentérale représente donc une quantité 15 fois plus élevée d'antibiotique (pour un quartier atteint, ce facteur diminue si plusieurs quartiers sont infectés).



C'est pourtant le traitement que nous préconisons ; en effet, nous partageons le point de vue qu'une antibiothérapie agressive couronnée de succès est préférable par rapport à un traitement moins fiable qui devra plus probablement être réitéré. La répétition de traitements antibiotiques insuffisants, qui se font souvent en variant les principes actifs par crainte que le choix de la molécule ne soit en cause, est fortement suspectée de favoriser l'émergence des résistances (SNGTV 2009; Ministère de l'agriculture et de la souveraineté alimentaire 2023; Aarestrup 2015).

L'utilisation des pénicillines en première intention et avec d'excellents taux de réussite est permise par la très faible proportion de résistance des souches de *Streptococcus uberis* en France, mais elle doit cependant continuer à être surveillée car son évolution est à la hausse.

#### iv. Habitudes des vétérinaires français

Il nous paraît particulièrement pertinent de diffuser les résultats de ce travail car les pratiques sur le terrain ne sont pas toujours adaptées aux recommandations en terme de lutte contre l'antibiorésistance.

Les pays scandinaves font figure d'exemple en matière d'utilisation raisonnée des antibiotiques, tout en maintenant une qualité et une productivité laitières de haut niveau. L'utilisation en pratique de benzylpénicilline en première intention sur les mammites à *Streptococcus uberis* et la combinaison avec du pénéthamate par voie systémique y est déjà largement répandue (Wilm et al. 2021; Rajala-Schultz et al. 2021). C'est nettement moins vrai en France.

En 2015, Angoujard publie un travail portant sur les habitudes de traitement de vétérinaires praticiens en cas de mammites. Il apparaît que 59% des vétérinaires interrogés utilisent en première intention un antibiotique à large spectre par voie intra-mammaire sur une mammite clinique non sévère ; 37% des vétérinaires interrogés sur le traitement d'une mammite subclinique préconisent un traitement antibiotique large spectre au tarissement, bien que le choix d'un traitement antibiotique ciblé soit proposé dans l'enquête (Angoujard 2015). Ces pratiques sont contraires aux recommandations de traitement ciblé, une des clés de la lutte contre l'antibiorésistance.

Pour les cliniques possédant une clientèle laitière suffisamment développée, le coût en matériel et le temps nécessaires à la réalisation de bactériologies sur géloses, très modérés, ne devraient pas être des freins à l'identification étiologique (dichotomie Gram +/Gram - à minima) permettant de traiter avec un antibiotique à spectre étroit. L'achat d'une petite étuve représente 300 à 500€ selon le modèle choisi, puis le coût des géloses représente de 2 à 5€ HT par prélèvement selon l'agent pathogène impliqué, pour une facturation d'une vingtaine d'euros HT à l'éleveur. Le temps passé pour l'opérateur représente un total de quelques minutes par prélèvement, réparties sur 24 à 48 heures (Schmitt-Van de Leemput, Schmitt-Beurrier 2005; Salat 2017). Le Mastatest® représente un investissement un peu plus important puisque le coût de l'appareil est d'environ 2000€ HT et celui de chaque cassette 8 à 10€ (Salat 2024). Nous montrons que sa précision est très correcte bien que légèrement inférieure à celle de la méthode sur géloses, et il garantit un résultat en 24 heures incluant des mesures de CMI, ne nécessite aucune compétence spécifique ou habitude de la technique et est totalement autonome une fois l'analyse lancée. Le recours aux laboratoires d'analyses vétérinaires est aussi une possibilité. L'important est de pouvoir raisonner l'utilisation des antibiotiques sur une identification étiologique suffisante.

#### D. Ouverture : Pistes de traitements futurs autres que les antibiotiques

Même si notre travail apporte une réponse à la problématique initiale du meilleur traitement entre les deux protocoles proposés, un des principaux désavantages du traitement combiné se trouve tout de même dans la quantité d'antibiotique utilisée. La possibilité de se passer d'antibiotique doit être tout particulièrement considérée lorsqu'il existe des alternatives crédibles pour le traitement d'une pathologie donnée. Bien entendu, l'efficacité du traitement ne doit pas être inférieure à celle de la méthode classique. De ce fait, pour ce qui est du traitement des mammites bovines, les antibiotiques restent à ce jour sans conteste le premier choix. Cependant, il existe des pistes très intéressantes pour le développement de nouvelles méthodes. Ce paragraphe n'a pas vocation à lister exhaustivement les autres options qui existent, mais à présenter brièvement les travaux les plus prometteurs à ce jour.

Une possibilité étudiée depuis plusieurs décennies est l'administration par voie intra-mammaire de probiotiques, sous la forme de bactéries lactiques non pathogènes. Une souche de *Lactococcus lactis* a notamment engendré une forte stimulation du système immunitaire, qui peut être pertinente dans un but préventif voire curatif. Des réflexions sont cependant encore à mener sur la voie et la posologie d'administration, puisque la stimulation excessive du système immunitaire mène à une modification non souhaitée de la qualité du lait (Le Loir, Even 2017; Crispie et al. 2008; Klostermann et al. 2008; Beecher et al. 2009).

Dans la même idée, une étude récente a prouvé l'intérêt d'une alimentation contenant des probiotiques (en l'occurrence un produit de fermentation de *Saccharomyces cerevisiae*) dans la lutte contre les mammites bovines. En effet, en administrant des probiotiques dans l'alimentation puis en provoquant une mammité à *S. uberis* suivie d'un traitement antibiotique adéquat, les chercheurs ont mis en évidence une meilleure régulation de la réponse inflammatoire chez le groupe testé. La température rectale, les CCSI et la température du quartier infecté étaient plus bas chez les vaches ayant reçu le probiotique (Vailati-Riboni et al. 2021).

L'utilisation de bactériophages est une piste qui intéresse depuis maintenant plusieurs décennies et a déjà donné lieu à une préparation commercialisée en médecine vétérinaire contre *E. coli*. Les bactériophages sont des virus présents dans la nature, capables d'infecter et de détruire des cellules bactériennes. Cette approche présente de bons résultats *in vitro* ; cependant, il reste à creuser les voies d'administration *in vivo* afin de pouvoir réellement l'utiliser sur le terrain car ces virus sont peu résistants dans le milieu extérieur (Han et al. 2013; Li, Zhang 2014; Gill et al. 2006; Radzikowski, Ostaszewska 2020). D'autre part, l'isolement de protéines de bactériophages appelées endolysines, capables de lyser la paroi bactérienne, est étudié actuellement. Une étude très récente montre que l'endolysine NC5 réduit drastiquement la charge bactérienne, l'infiltration leucocytaire ainsi que la concentration de chémokines pro-inflammatoires lors de mammité à *S. uberis* chez la souris. Cette étude utilise cependant l'endolysine en association avec un traitement à base de cloxacilline (Vander Elst et al. 2024).

La piste des nanotechnologies est suivie de près en médecine vétérinaire. Des métaux tels que l'argent, l'or et le cuivre sont utilisés au sein de nanoparticules dans le but d'éliminer les microorganismes pathogènes. L'effet obtenu est la production d'espèces réactives de l'oxygène, l'inhibition de la réplication de l'ADN ou même l'arrêt complet du métabolisme selon les particules utilisées (Wernicki et al. 2014; Shamaila et al. 2016). L'argent et l'or ont plus d'effet sur les bactéries Gram négatives, tandis que les nanoparticules à base de cuivre se montrent particulièrement efficaces sur les bactéries Gram positives qui ont une paroi plus épaisse. Les recherches sur les nanoparticules doivent encore être complétées car à ce jour elles ne sont pas

assez sûres d'utilisation. Elles sont cependant l'une des pistes les plus prometteuses pour le développement de produits commerciaux destinés au traitement des mammites bovines dans les prochaines années (Kour et al. 2023; Radzikowski, Ostaszewska 2020).

Parmi les protéines et peptides antimicrobiens, on peut citer le lysozyme dont l'efficacité lors d'administration intraveineuse a été prouvée (Malinowski et al. 2006), et la lactoferrine qui a des propriétés antivirales, antibiotiques et antifongiques (Hafez et al. 2013; Kutila et al. 2004).

De nombreux extraits de plantes et huiles essentielles ont été testées dans le but de voir si leurs propriétés antimicrobiennes avaient un intérêt dans le traitement des mammites bovines. Le thymol ou encore l'huile essentielle de patchouli figurent dans la longue liste des dérivés végétaux étudiés (Cheng, Han 2020). De très nombreux principes actifs présentent une activité antibactérienne *in vitro*. Malgré cela, plusieurs études ont mis en évidence des taux de guérison bactériologique très insuffisants lors d'administration seule de produits phytothérapeutiques (Kae et al. 2018) ou de préparations à base d'huiles essentielles (Harlet 2012) sur des vaches à mammites. Les extraits végétaux utilisés seuls peinent donc encore à convaincre sur le terrain en agriculture conventionnelle ; de plus amples travaux pourraient favoriser le développement de produits avec une meilleure efficacité.

Même si certains travaux sont prometteurs, une alternative fiable permettant de se passer totalement d'antibiotique n'existe pas à ce jour. On peut cependant raisonnablement penser que les années à venir verront arriver de nouveaux produits sur le marché, avec l'espoir de diminuer la quantité massive d'antibiotiques consacrée aux mammites bovines dans le monde.

## CONCLUSION

Ce travail présente les résultats obtenus des 38 premiers cas de l'étude. Il ne s'agit pas de la version finale de l'expérience menée. Nous attendons la complétion de l'effectif, qui devrait être autour de 72 cas au total, dans les prochains mois afin d'augmenter la puissance statistique de l'étude. Néanmoins, les données actuelles sont déjà parlantes. La moyenne d'efficacité du protocole A est de 47,1% contre 76,2% pour le protocole B, soit une différence de 29,1%. Ces résultats provisoires semblent indiquer que l'utilisation combinée de pénéthamate par voie intramusculaire et de pénicilline G par voie intra-mammaire pendant 5 jours sur des mammites bovines chroniques à *Streptococcus uberis* donne une probabilité de guérison bactériologique nettement meilleure que l'utilisation de la voie locale seule.

Nous recommandons une approche thérapeutique de terrain incluant un diagnostic étiologique et l'utilisation de molécules antibiotiques dans l'ordre de priorité recommandé par l'European Medicines Agency. En accord avec de nombreux autres travaux, nous insistons sur la nécessité d'une identification bactérienne préalable à tout traitement antibiotique de mammite. La médecine vétérinaire de demain doit obligatoirement passer par une utilisation pertinente et justifiée des molécules antibactériennes. A ce titre, nous montrons que le Mastatest® fait partie des outils de terrain simples et fiables dont l'utilisation par les vétérinaires praticiens est à encourager. Concernant l'approche thérapeutique, la pénicilline G fait toujours bien partie des molécules à utiliser en première intention ; *S. uberis* continue, d'après nos résultats, de présenter des niveaux de résistance à cet antibiotique très faibles en France. L'échantillon étudié ne comporte en effet que 6,3% de bactéries dont la sensibilité est légèrement diminuée par rapport au seuil du CLSI, pour une CMI moyenne de 0,0375 µg/mL [0,0297 ; 0,0453].

La régression logistique effectuée dans notre étude ne met en évidence aucun lien entre CMI de la souche et guérison bactériologique. Au regard du faible taux de résistance de *S. uberis* à la pénicilline, il paraît logique que ce paramètre ne permette pas d'expliquer les échecs thérapeutiques fréquents constatés sur le terrain. En revanche, les facteurs de virulence de la bactérie, la réaction inflammatoire de la mamelle et les caractéristiques des antibiotiques utilisés influencent probablement l'issue d'une mammite chronique à *Streptococcus uberis*.

En effet, le passage à la chronicité des mammites à *S. uberis* représente un challenge considérable car ces bactéries sont capables d'envahir les cellules épithéliales mammaires et engendrent une réaction inflammatoire pouvant être forte, à l'origine de fibrose. Les caractéristiques pharmacocinétiques du pénéthamate permettent d'améliorer nettement la distribution de la benzylpénicilline dans les cellules épithéliales mammaires et d'atteindre les souches ayant une localisation intracellulaire, expliquant ainsi le succès du second protocole thérapeutique.

Ce protocole comporte néanmoins des désavantages que nous prenons en compte, à savoir l'utilisation d'une quantité plus importante d'antibiotique, l'augmentation du coût et la nécessité d'une manipulation supplémentaire de la vache. Cependant, il nous paraît prioritaire aussi bien en termes de rentabilité économique, de bien-être animal à moyen terme que de bonnes pratiques d'antibiothérapie de privilégier ce traitement. Il présente en effet une efficacité nettement supérieure au traitement intra-mammaire seul. La complétion des effectifs de cette étude devrait préciser ce résultat de façon statistiquement significative, et nous espérons le voir corroboré dans les années à venir par de nouveaux travaux.

Le développement de produits efficaces en médecine vétérinaire permettant de se passer d'antibiotiques lors du traitement de mammite reste, à terme, un objectif à atteindre.

## BIBLIOGRAPHIE

- AARESTRUP, Frank M., 2015. The livestock reservoir for antimicrobial resistance: a personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 5 juin 2015. Vol. 370, n° 1670, pp. 20140085. DOI 10.1098/rstb.2014.0085.
- ABBELOOS, Elke, PYÖRÄLÄ, Satu, RAJALA-SCHULTZ, Päivi et MYLLYS, Vesa, 2018. Determination of the intramammary dose of benzylpenicillin required to maintain an adequate concentration in the milk to inhibit Gram-positive bacteria in the clinically normal udder for 24 hr. *Wiley Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 8 mai 2018. N° 41, pp. 691-698.
- ABUREEMA, Salem, 2014. Molecular epidemiology of recurrent clinical mastitis due to *Streptococcus uberis*: Evidence of both an environmental source and recurring infection with the same strain. . 2014. Vol. 97, n° 1.
- ACHARYA, Kamal Raj, BRANKSTON, Gabrielle, SLAVIC, Durda et GREER, Amy L., 2021. Spatio-Temporal Variation in the Prevalence of Major Mastitis Pathogens Isolated From Bovine Milk Samples Between 2008 and 2017 in Ontario, Canada. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. Vol. 8, pp. 742696. DOI 10.3389/fvets.2021.742696.
- ALMEIDA, R. A., LUTHER, D. A., KUMAR, S. J., CALVINHO, L. F., BRONZE, M. S. et OLIVER, S. P., 1996. Adherence of *Streptococcus uberis* to bovine mammary epithelial cells and to extracellular matrix proteins. *Zentralblatt Fur Veterinarmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B*. septembre 1996. Vol. 43, n° 7, pp. 385-392. DOI 10.1111/j.1439-0450.1996.tb00330.x.
- ALMEIDA, R. A. et OLIVER, S. P., 1993a. Antiphagocytic Effect of the Capsule of *Streptococcus uberis*. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 1993. Vol. 40, n° 1-10, pp. 707-714. DOI 10.1111/j.1439-0450.1993.tb00195.x.
- ALMEIDA, R. A. et OLIVER, S. P., 1993b. Growth Curve, Capsule Expression and Characterization of the Capsular Material of Selected Strains of *Streptococcus uberis*. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 1993. Vol. 40, n° 1-10, pp. 697-706. DOI 10.1111/j.1439-0450.1993.tb00194.x.
- ALMEIDA, R. A., PATEL, D., FRITON, G. M. et OLIVER, S. P., 2007. Intracellular killing of mastitis pathogens by penethamate hydriodide following internalization into mammary epithelial cells. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2007. Vol. 30, n° 2, pp. 151-156. DOI 10.1111/j.1365-2885.2007.00830.x.
- ALMEIDA, Raúl A., DEGO, Oudessa Kerro, HEADRICK, Susan I., LEWIS, Mark J. et OLIVER, Stephen P., 2015. Role of *Streptococcus uberis* adhesion molecule in the pathogenesis of *Streptococcus uberis* mastitis. *Veterinary Microbiology*. 30 septembre 2015. Vol. 179, n° 3, pp. 332-335. DOI 10.1016/j.vetmic.2015.07.005.
- ALMEIDA, Raul A. et OLIVER, Stephen P., 2006. Trafficking of *Streptococcus uberis* in bovine mammary epithelial cells. *Microbial Pathogenesis*. 1 août 2006. Vol. 41, n° 2, pp. 80-89. DOI 10.1016/j.micpath.2006.04.007.

ANGOUIJARD, Pauline, 2015. *Enquête sur le diagnostic et le traitement des mammites de la vache laitière par les vétérinaires de terrain en France en 2015*. Thèse d'exercice. 1765-....., France : École nationale vétérinaire d'Alfort.

ANSES, 2022. *Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2021*.

ANSES, 2024. Index des médicaments vétérinaires autorisés en France. [en ligne]. 2024. [Consulté le 16 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.ircp.anmv.anses.fr/>

BAIN, Sherrie, 2023. *Association of Bovine Mastitis*.

BARDE, Clothilde, 2019. Sélection génétique et résistance aux mammites des vaches laitières. *La Semaine Vétérinaire*. 6 avril 2019. N° 1805.

BARDE, Clothilde et LEQUEUX, Guillaume, 2019. Actualités sur l'antibiothérapie des mammites des vaches laitières (première partie). *La Semaine Vétérinaire*. 14 juin 2019. N° 1813.

BAREILLE, Sylvain, LEBOEUF et LEQUEUX, Guillaume, 2014. Antibiosensibilité de *S. uberis*, *S. aureus* et *E. coli* isolés lors de mammites bovines en France. *BULLETIN DES GROUPEMENTS TECHNIQUES VETERINAIRES*. 1 janvier 2014. N° 76, pp. 77-83.

BARLOW, John, 2011. Mastitis Therapy and Antimicrobial Susceptibility: a Multispecies Review with a Focus on Antibiotic Treatment of Mastitis in Dairy Cattle. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2011.

BASEGGIO, N., MANSELL, P. D., BROWNING, J. W. et BROWNING, G. F., 1997. Strain differentiation of isolates of streptococci from bovine mastitis by pulsed-field gel electrophoresis. *Molecular and Cellular Probes*. octobre 1997. Vol. 11, n° 5, pp. 349-354. DOI 10.1006/mcpr.1997.0126.

BATES, Andrew, LAVEN, Richard, BORK, Olaf, HAY, Merlyn, MCDOWELL, Jess et SALDIAS, Bernardita, 2020. Selective and deferred treatment of clinical mastitis in seven New Zealand dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*. mars 2020. Vol. 176, pp. 104915. DOI 10.1016/j.prevetmed.2020.104915.

BEECHER, Christine, DALY, Mairéad, BERRY, Donagh P., KLOSTERMANN, Katja, FLYNN, James, MEANEY, William, HILL, Colin, MCCARTHY, Tommie V., ROSS, R. Paul et GIBLIN, Linda, 2009. Administration of a live culture of *Lactococcus lactis* DPC 3147 into the bovine mammary gland stimulates the local host immune response, particularly IL-1beta and IL-8 gene expression. *The Journal of Dairy Research*. août 2009. Vol. 76, n° 3, pp. 340-348. DOI 10.1017/S0022029909004154.

BERGONIER, Dominique, 2022a. LES MAMMITES DE LA VACHE LAITIÈRE : Introduction et principaux enjeux. . Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 18 février 2022.

BERGONIER, Dominique, 2022b. LES MAMMITES DE LA VACHE LAITIÈRE : Epidémiologie analytique et synthétique. . Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 16 mars 2022.

BERGONIER, Dominique, 2022c. LES MAMMITES DE LA VACHE LAITIÈRE : Prophylaxie. . Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 12 avril 2022.

- BERGONIER, Dominique, 2022d. LES MAMMITES DE LA VACHE LAITIÈRE : Epidémiologie descriptive. . Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 16 mars 2022.
- BERGONIER, Dominique, 2022e. LES MAMMITES DE LA VACHE LAITIÈRE : Étiologie. . Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 18 février 2022.
- BERGONIER, Dominique, 2023. Maîtrise des Mammmites et de la Qualité cellulaire du lait chez la vache laitière : approche pratique. . Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 7 septembre 2023.
- BIDAUD, HOUFFSCHMITT et VIGUERIE, 2007. Étiologie des mammmites bovines en France entre 2005 et 2007. *Journées bovines nantaises*. 2007.
- BIRHANU, Misrak, LETA, Samson, MAMO, Gezahegne et TESFAYE, Shimelis, 2017. Prevalence of bovine subclinical mastitis and isolation of its major causes in Bishoftu Town, Ethiopia. *BMC research notes*. 21 décembre 2017. Vol. 10, n° 1, pp. 767. DOI 10.1186/s13104-017-3100-0.
- BLOWEY, R. et EDMONDSON, P. (éd.), 2010. Mastitis control in dairy herds. In : [en ligne]. UK : CABI. janvier 2010. [Consulté le 14 juin 2024]. ISBN 978-1-84593-550-4. Disponible à l'adresse : <http://www.cabidigitallibrary.org/doi/book/10.1079/9781845935504.0000>
- BODDIE, R. L. et NICKERSON, S. C., 1986. Dry cow therapy: effects of method of drug administration on occurrence of intramammary infection. *Journal of Dairy Science*. janvier 1986. Vol. 69, n° 1, pp. 253-257. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(86)80394-0.
- BOEHRINGER INGELHEIM ANIMAL HEALTH FRANCE, 2020. RCP STOP M®. *IRCP ANMV Anses* [en ligne]. 17 août 2020. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=STOP+M>
- BOIREAU, Clémence, CAZEAU, Géraldine, JARRIGE, Nathalie, CALAVAS, Didier, MADEC, Jean-Yves, LEBLOND, Agnès, HAENNI, Marisa et GAY, Émilie, 2018. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from mastitis in dairy cattle in France, 2006-2016. *Journal of Dairy Science*. octobre 2018. Vol. 101, n° 10, pp. 9451-9462. DOI 10.3168/jds.2018-14835.
- BONESTROO, John, VAN DER VOORT, Mariska, FALL, Nils, HOGVEEN, Henk, EMANUELSON, Ulf et KLAAS, Ilka Christine, 2021. Progression of different udder inflammation indicators and their episode length after onset of inflammation using automatic milking system sensor data. *Journal of Dairy Science*. 1 mars 2021. Vol. 104, n° 3, pp. 3458-3473. DOI 10.3168/jds.2019-18054.
- BORK, Olaf, 2020. Patents Assigned to MASTAPLEX LIMITED. 10829796. novembre 2020.
- BOSQUET, G, 2013. Référentiel vétérinaire 2013 pour le traitement des mammmites bovines. In : *Journées Nationales des GTV 2013*. 1 janvier 2013. pp. 703-708.
- BOUSQUET-MELOU, Alain, 2022. Antibiothérapie des infections mammaires. . Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 19 avril 2022.
- BRADLEY, A. J., 2002. Bovine Mastitis: An Evolving Disease. *The Veterinary Journal*. 1 septembre 2002. Vol. 164, n° 2, pp. 116-128. DOI 10.1053/tvj.2002.0724.

- BRAMLEY, A. J., 1982. Sources of *Streptococcus uberis* in the dairy herd. I. Isolation from bovine faeces and from straw bedding of cattle. *The Journal of Dairy Research*. août 1982. Vol. 49, n° 3, pp. 369-373. DOI 10.1017/s0022029900022500.
- CAZEAU, BOTREL, SALA, JARRIGE, CHAZEL et CALAVAS, 2009. Motivations des prescriptions antibiotiques et adéquation usage-recommandations en filière bovine : résultats de l'enquête Afssa-SNGTV. *BULLETIN DES GROUPEMENTS TECHNIQUES VETERINAIRES*. 2009. N° 49, pp. 61-65.
- CHA, E, BAR, HERTL, TAUER, BENNETT, GONZALES, SCHUKKEN, WELCOME et GRÖHN, 2011. The cost and management of different types of clinical mastitis in dairy cows estimated by dynamic programming. . 2011. Vol. 94, n° 9.
- CHA, E., KRISTENSEN, A. R., HERTL, J. A., SCHUKKEN, Y. H., TAUER, L. W., WELCOME, F. L. et GRÖHN, Y. T., 2014. Optimal insemination and replacement decisions to minimize the cost of pathogen-specific clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 1 avril 2014. Vol. 97, n° 4, pp. 2101-2117. DOI 10.3168/jds.2013-7067.
- CHENG, Jia, QU, Weijie, BARKEMA, Herman W., NOBREGA, Diego B., GAO, Jian, LIU, Gang, DE BUCK, Jeroen, KASTELIC, John P., SUN, Hong et HAN, Bo, 2019. Antimicrobial resistance profiles of 5 common bovine mastitis pathogens in large Chinese dairy herds. *Journal of Dairy Science*. 1 mars 2019. Vol. 102, n° 3, pp. 2416-2426. DOI 10.3168/jds.2018-15135.
- CHENG, Wei Nee et HAN, Sung Gu, 2020. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments — A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. novembre 2020. Vol. 33, n° 11, pp. 1699-1713. DOI 10.5713/ajas.20.0156.
- CHRISTENSEN, Erik, 2007. Methodology of superiority vs. equivalence trials and non-inferiority trials. *Journal of Hepatology*. 1 mai 2007. Vol. 46, n° 5, pp. 947-954. DOI 10.1016/j.jhep.2007.02.015.
- CHUARD, C. et RELLER, L. B., 1998. Bile-esculin test for presumptive identification of enterococci and streptococci: effects of bile concentration, inoculation technique, and incubation time. *Journal of Clinical Microbiology*. avril 1998. Vol. 36, n° 4, pp. 1135-1136. DOI 10.1128/JCM.36.4.1135-1136.1998.
- CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2024. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 34th Edition. *Clinical & Laboratory Standards Institute* [en ligne]. 28 février 2024. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
- CONCEIÇÃO, Natália, RODRIGUES, Wellington Francisco, DE OLIVEIRA, Kessys Lorrânya Peralta, DA SILVA, Lucas Emanuel Pinheiro, DE SOUZA, Laís Rezende Cardoso, DA DE CUNHA HUEB BARATA OLIVEIRA, Cristina et DE OLIVEIRA, Adriana Gonçalves, 2020. Beta-lactams susceptibility testing of penicillin-resistant, ampicillin-susceptible *Enterococcus faecalis* isolates: a comparative assessment of Etest and disk diffusion methods against broth dilution. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 17 septembre 2020. Vol. 19, n° 1, pp. 43. DOI 10.1186/s12941-020-00386-8.
- CONDAS, Larissa A. Z., DE BUCK, Jeroen, NOBREGA, Diego B., CARSON, Domonique A., ROY, Jean-Philippe, KEEFE, Greg P., DEVRIES, Trevor J., MIDDLETON, John R., DUFOUR, Simon et BARKEMA, Herman W., 2017. Distribution of non-*aureus* staphylococci species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical



mastitis. *Journal of Dairy Science*. 1 juillet 2017. Vol. 100, n° 7, pp. 5613-5627. DOI 10.3168/jds.2016-12479.

CORNELISSEN, J. B. W. J., DE GREEFF, A., HEUVELINK, A. E., SWARTS, M., SMITH, H. E. et VAN DER WAL, F. J., 2016. Rapid detection of *Streptococcus uberis* in raw milk by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Dairy Science*. 1 juin 2016. Vol. 99, n° 6, pp. 4270-4281. DOI 10.3168/jds.2015-10683.

CRAWSHAW, W. M., MACDONALD, N. R. et DUNCAN, G., 2005. Outbreak of *Candida rugosa* mastitis in a dairy herd after intramammary antibiotic treatment. *The Veterinary Record*. 18 juin 2005. Vol. 156, n° 25, pp. 812-813. DOI 10.1136/vr.156.25.812.

CRISPIE, Fiona, ALONSO-GÓMEZ, Mercedes, O'LOUGHLIN, Collette, KLOSTERMANN, Katja, FLYNN, James, ARKINS, Seán, MEANEY, William, PAUL ROSS, R. et HILL, Colin, 2008. Intramammary infusion of a live culture for treatment of bovine mastitis: effect of live lactococci on the mammary immune response. *The Journal of Dairy Research*. août 2008. Vol. 75, n° 3, pp. 374-384. DOI 10.1017/S0022029908003385.

CROWLEY, R. C., LEIGH, J. A., WARD, P. N., LAPPIN-SCOTT, H. M. et BOWLER, L. D., 2011. Differential protein expression in *Streptococcus uberis* under planktonic and biofilm growth conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. janvier 2011. Vol. 77, n° 1, pp. 382-384. DOI 10.1128/AEM.01099-10.

DAHER, Omar, LOPARDO, Horacio A et RUBEGLIO, Etelvina A, 2002. Value of Etest penicillin V and penicillin G strips for penicillin susceptibility testing of *Neisseria meningitidis*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 1 juin 2002. Vol. 43, n° 2, pp. 119-121. DOI 10.1016/S0732-8893(02)00386-3.

DALEN, Gunnar, RACHAH, Amira, NØRSTEBØ, Håvard, SCHUKKEN, Ynte H. et REKSEN, Olav, 2019. Dynamics of somatic cell count patterns as a proxy for transmission of mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*. décembre 2019. Vol. 102, n° 12, pp. 11349-11358. DOI 10.3168/jds.2019-16847.

DALLAGO, Gabriel M., WADE, Kevin M., CUE, Roger I., MCCLURE, J. T., LACROIX, René, PELLERIN, Doris et VASSEUR, Elsa, 2021. Keeping Dairy Cows for Longer: A Critical Literature Review on Dairy Cow Longevity in High Milk-Producing Countries. *Animals*. mars 2021. Vol. 11, n° 3, pp. 808. DOI 10.3390/ani11030808.

DEFFONTAINES, Nicolas, 2017. *Les suicides des agriculteurs. Pluralité des approches pour une analyse configurationnelle du suicide*. phdthesis. Université de Bourgogne Franche-Comté (COMUE).

DEGEN, S., PADUCH, J.-H., HOEDEMAKER, M. et KRÖMKER, V., 2015. Factors affecting the probability of bacteriological cure of bovine mastitis. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*. 2015. Vol. 43, n° 4, pp. 222-227. DOI 10.15653/TPG-141082.

DEGUEURCE, 2004. Anatomie de la mamelle des Ruminants, Dissection des Ruminants et cours magistral. Polycopié. École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques. . 2004.

DE HAAS, Y., VEERKAMP, R. F., BARKEMA, H. W., GRÖHN, Y. T. et SCHUKKEN, Y. H., 2004. Associations between pathogen-specific cases of clinical mastitis and somatic cell count patterns. *Journal of Dairy Science*. janvier 2004. Vol. 87, n° 1, pp. 95-105. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(04)73146-X.

DE JONG, Ellen, CREYTENS, Lien, DE VliegHER, Sarne, MCCUBBIN, Kayley D., BAPTISTE, Mya, LEUNG, Alexander A., SPEKSNIJDER, David, DUFOUR, Simon, MIDDLETON, John R., RUEGG, Pamela L., LAM, Theo J. G. M., KELTON, David F., MCDUGALL, Scott, GODDEN, Sandra M., LAGO, Alfonso, RAJALA-SCHULTZ, Päivi J., ORSEL, Karin, KRÖMKER, Volker, KASTELIC, John P. et BARKEMA, Herman W., 2023. Selective treatment of nonsevere clinical mastitis does not adversely affect cure, somatic cell count, milk yield, recurrence, or culling: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. 1 février 2023. Vol. 106, n° 2, pp. 1267-1286. DOI 10.3168/jds.2022-22271.

DE JONG, Ellen, CREYTENS, Lien, VliegHER, Sarne De, MCCUBBIN, Kayley D, BAPTISTE, Mya, LEUNG, Alexander A, SPEKSNIJDER, David, DUFOUR, Simon, MIDDLETON, John R et RUEGG, Pamela L, 2023. Selective treatment of nonsevere clinical mastitis does not adversely affect cure, somatic cell count, milk yield, recurrence, or culling: A systematic review and meta-analysis. . 2023. Vol. 106, n° 2.

DELUYKER, H. A., VAN OYE, S. N. et BOUCHER, J. F., 2005. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows. *Journal of Dairy Science*. février 2005. Vol. 88, n° 2, pp. 604-614. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(05)72724-7.

DENG, Z., KOOP, G., LAM, T. J. G. M., VAN DER LANS, I. A., VERNOOIJ, J. C. M. et HOGEVEEN, H., 2019. Farm-level risk factors for bovine mastitis in Dutch automatic milking dairy herds. *Journal of Dairy Science*. mai 2019. Vol. 102, n° 5, pp. 4522-4535. DOI 10.3168/jds.2018-15327.

DEVRIESE, L. A, HOMMEZ, J, LAEVENS, H, POT, B, VANDAMME, P et HAESEBROUCK, F, 1999. Identification of aesculin-hydrolyzing streptococci, lactococci, aerococci and enterococci from subclinical intramammary infections in dairy cows. *Veterinary Microbiology*. 1 octobre 1999. Vol. 70, n° 1, pp. 87-94. DOI 10.1016/S0378-1135(99)00124-8.

DINGWELL, Randy, LESLIE, Ken, SCHUKKEN, Ynte, SARGEANT, Jan et TIMMS, Leo, 2003. Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. *The Canadian veterinary journal. La revue vétérinaire canadienne*. 1 juin 2003. Vol. 44, pp. 413-5.

DIONISIO, Lidia Po Catalao et BORREGO, Juan J., 1995. Evaluation of media for the enumeration of faecal streptococci from natural water samples. *Journal of Microbiological Methods*. août 1995. Vol. 23, n° 2, pp. 183-203. DOI 10.1016/0167-7012(95)00014-C.

DIQUELOU, Armelle, 2020. Examen sémiologique du chien. . Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 22 janvier 2020.

DIVASA-FARMAVIC, 2020. RCP PERMACYL®. *IRCP ANMV Anses* [en ligne]. 13 mai 2020. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=PERMACYL%20182%2C5%20MG/ML%20POUDRE%20ET%20SOLVANT%20POUR%20SUSPENSION%20INJECTABLE%20POUR%20BOVINS>

DJABRI, Belgacem, BAREILLE, Nathalie, BEAUDEAU, François et SEEGER, Henri, 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Veterinary Research*. 1 juillet 2002. Vol. 33, n° 4, pp. 335-357. DOI 10.1051/vetres:2002021.

EDBERG, S. C., PITTMAN, S. et SINGER, J. M., 1977. Esculin hydrolysis by Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*. août 1977. Vol. 6, n° 2, pp. 111-116. DOI 10.1128/jcm.6.2.111-116.1977.

EHINGER, A. M. et KIETZMANN, M., 2000. Tissue distribution of benzylpenicillin after intramammary administration in the isolated perfused bovine udder. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. octobre 2000. Vol. 23, n° 5, pp. 303-310. DOI 10.1046/j.1365-2885.2000.00274.x.

EICHER, Richard, SUTTER-LUTZ, Barbara et GERBER, Luc, 2002. Contrôler les mammites à *Staphylococcus aureus*. *Le Point Vétérinaire*. 1 septembre 2002. N° 228.

ERSKINE, R. J., WALKER, R. D., BOLIN, C. A., BARTLETT, P. C. et WHITE, D. G., 2002. Trends in Antibacterial Susceptibility of Mastitis Pathogens During a Seven-Year Period. *Journal of Dairy Science*. 1 mai 2002. Vol. 85, n° 5, pp. 1111-1118. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(02)74172-6.

ERSKINE, Ronald J., WAGNER, Sarah et DEGRAVES, Fred J., 2003. Mastitis therapy and pharmacology. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. mars 2003. Vol. 19, n° 1, pp. 109-138, vi. DOI 10.1016/s0749-0720(02)00067-1.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2020. Categorisation of antibiotics used in animals promotes responsible use to protect public and animal health. *EMA Europa*. 28 janvier 2020.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE (CVMP) AND EFSA PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS (BIOHAZ), MURPHY, David, RICCI, Antonia, AUCE, Zanda, BEECHINOR, J. Gabriel, BERGENDAHL, Hanne, BREATHNACH, Rory, BUREŠ, Jiří, DUARTE DA SILVA, João Pedro, HEDEROVÁ, Judita, HEKMAN, Peter, IBRAHIM, Cornelia, KOZHUHAROV, Emil, KULCSÁR, Gábor, LANDER PERSSON, Eva, LENHARDSSON, Johann M., MAČIULSKIS, Petras, MALEMIS, Ioannis, MARKUS-CIZELJ, Ljiljana, MICHAELIDOU-PATSIA, Alia, NEVALAINEN, Martti, PASQUALI, Paolo, ROUBY, Jean-Claude, SCHEFFERLIE, Johan, SCHLUMBOHM, Wilhelm, SCHMIT, Marc, SPITERI, Stephen, SRČIČ, Stanko, TABAN, Lollita, TIIRATS, Toomas, URBAIN, Bruno, VESTERGAARD, Ellen-Margrethe, WACHNIK-ŚWIĘCICKA, Anna, WEEKS, Jason, ZEMANN, Barbara, ALLENDE, Ana, BOLTON, Declan, CHEMALY, Marianne, FERNANDEZ ESCAMEZ, Pablo Salvador, GIRONES, Rosina, HERMAN, Lieve, KOUTSOUMANIS, Kostas, LINDQVIST, Roland, NØRRUNG, Birgit, ROBERTSON, Lucy, RU, Giuseppe, SANAA, Moez, SIMMONS, Marion, SKANDAMIS, Panagiotis, SNARY, Emma, SPEYBROECK, Niko, TER KUILE, Benno, WAHLSTRÖM, Helene, BAPTISTE, Keith, CATRY, Boudewijn, COCCONCELLI, Pier Sandro, DAVIES, Robert, DUCROT, Christian, FRIIS, Christian, JUNGENSEN, Gregers, MORE, Simon, MUÑOZ MADERO, Cristina, SANDERS, Pascal, BOS, Marian, KUNSAGI, Zoltan, TORREN EDO, Jordi, BROZZI, Rosella, CANDIANI, Denise, GUERRA, Beatriz, LIEBANA, Ernesto, STELLA, Pietro, THRELFALL, John et JUKES, Helen, 2017. EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). *EFSA Journal*. 2017. Vol. 15, n° 1, pp. e04666. DOI 10.2903/j.efsa.2017.4666.

FACKLAM, Richard, 2002. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical Microbiology Reviews*. octobre 2002. Vol. 15, n° 4, pp. 613-630. DOI 10.1128/CMR.15.4.613-630.2002.

FANG, Weihuan, ALMEIDA, Raul A. et OLIVER, Stephen P., 2000. Effects of lactoferrin and milk on adherence of *Streptococcus uberis* bovine mammary epithelial cells. *American Journal of Veterinary Research*. 1 mars 2000. Vol. 61, n° 3, pp. 275-279. DOI 10.2460/ajvr.2000.61.275.

FAROULT, Bertrand et LE PAGE, Philippe, 2006. Quels prélèvements de lait pour le diagnostic bactériologique des mammites bovines ? *BULLETIN DES GROUPEMENTS TECHNIQUES VÉTÉRINAIRES*. 2006. N° 33.

FESSIA, Aluminé S. et ODIERNO, Liliana M., 2021. Potential factors involved in the early pathogenesis of *Streptococcus uberis* mastitis: a review. *Folia Microbiologica*. août 2021. Vol. 66, n° 4, pp. 509-523. DOI 10.1007/s12223-021-00879-9.

FISCHETTI, V. A., 1989. Streptococcal M protein: molecular design and biological behavior. *Clinical Microbiology Reviews*. juillet 1989. Vol. 2, n° 3, pp. 285-314. DOI 10.1128/CMR.2.3.285.

FORTIN, Madeleine, MESSIER, Serge, PARÉ, Julie et HIGGINS, Robert, 2003. Identification of catalase-negative, non-beta-hemolytic, gram-positive cocci isolated from milk samples. *Journal of Clinical Microbiology*. janvier 2003. Vol. 41, n° 1, pp. 106-109. DOI 10.1128/JCM.41.1.106-109.2003.

GANJU, Jitendra et ROM, Dror, 2017. Non-inferiority versus superiority drug claims: the (not so) subtle distinction. *Trials*. 15 juin 2017. Vol. 18, pp. 278. DOI 10.1186/s13063-017-2024-2.

GANTNER, Vesna, JOŽEF, Ivana, GANTNER, Ranko, STEINER, Zvonimir Steiner, ZMAIĆ, Luka, SOLIĆ, Dragan et POTOČNIK, Klemen, 2023. ESTIMATION OF PREVALENCE, EFFECT AND COST OF MASTITIS ON SIMMENTAL DAIRY FARMS OF DIFFERENT SIZES. *Economics of Agriculture*. 23 décembre 2023. Vol. 70, n° 4, pp. 1123-1139. DOI 10.59267/ekoPolj23041123G.

GANTNER, Vesna, JOŽEF, Ivana, VERA, Popović, DRAGAN, Solić, JOVANA, Popović et KLEMEN, Potočnik, 2023. The Effect of Age of Cows on Variability in Mastitis Prevalence Risk and its Concomitant Impacts on the Successive Daily Milk Yield. *Contemporary Agriculture*. 1 décembre 2023. Vol. 72, n° 4, pp. 170-174. DOI 10.2478/contagri-2023-0022.

GAO, Jian, BARKEMA, Herman W., ZHANG, Limei, LIU, Gang, DENG, Zhaoju, CAI, Lingjie, SHAN, Ruixue, ZHANG, Shiyao, ZOU, Jiaqi, KASTELIC, John P. et HAN, Bo, 2017. Incidence of clinical mastitis and distribution of pathogens on large Chinese dairy farms. *Journal of Dairy Science*. juin 2017. Vol. 100, n° 6, pp. 4797-4806. DOI 10.3168/jds.2016-12334.

GILL, J. J., PACAN, J. C., CARSON, M. E., LESLIE, K. E., GRIFFITHS, M. W. et SABOUR, P. M., 2006. Efficacy and pharmacokinetics of bacteriophage therapy in treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis in lactating dairy cattle. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. septembre 2006. Vol. 50, n° 9, pp. 2912-2918. DOI 10.1128/AAC.01630-05.

GILLESPIE, B. E. et OLIVER, S. P., 2005. Simultaneous detection of mastitis pathogens, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, and *Streptococcus agalactiae* by multiplex real-time polymerase chain reaction. *Journal of Dairy Science*. octobre 2005. Vol. 88, n° 10, pp. 3510-3518. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(05)73036-8.

GOLDBERG, HS, 1959. *Antibiotics - Their Chemistry and Non-medical Uses*.

GOMES, Fernanda et HENRIQUES, Mariana, 2016. Control of Bovine Mastitis: Old and Recent Therapeutic Approaches. *Current Microbiology*. avril 2016. Vol. 72, n° 4, pp. 377-382. DOI 10.1007/s00284-015-0958-8.

GRÖHN, Y. T., 2000. Milk Yield and Disease: Towards Optimizing Dairy Herd Health and Management Decisions. *The Bovine Practitioner*. 1 janvier 2000. pp. 32-40. DOI 10.21423/bovine-vol34no1p32-40.

GROSCHUP, M. H., HAHN, G. et TIMONEY, J. F., 1991. Antigenic and genetic homogeneity of *Streptococcus uberis* strains from the bovine udder. *Epidemiology and Infection*. octobre 1991. Vol. 107, n° 2, pp. 297-310.

GROSCHUP, M. H. et TIMONEY, J. F., 1993. An R-like protein of *Streptococcus uberis* stimulates opsonising antibodies. *Research in Veterinary Science*. 1 janvier 1993. Vol. 54, n° 1, pp. 124-126. DOI 10.1016/0034-5288(93)90021-7.

HADRICH, J. C., WOLF, C. A., LOMBARD, J. et DOLAK, T. M., 2018. Estimating milk yield and value losses from increased somatic cell count on US dairy farms. *Journal of Dairy Science*. avril 2018. Vol. 101, n° 4, pp. 3588-3596. DOI 10.3168/jds.2017-13840.

HAENNI, Marisa, LUPO, Agnese et MADEC, Jean-Yves, 2018. Antimicrobial Resistance in *Streptococcus* spp. *Microbiology Spectrum*. mars 2018. Vol. 6, n° 2. DOI 10.1128/microbiolspec.ARBA-0008-2017.

HAENNI, Marisa et MADEC, Jean-Yves, 2010. La résistance à la pénicilline G chez *Streptococcus uberis*. *BULLETIN DES GROUPEMENTS TECHNIQUES VETERINAIRES*. septembre 2010. N° 55.

HAFEZ, Salama M. Abd El, ISMAEL, Alaa B., MAHMOUD, Manal B. et ELARABY, Abdel-Kader A., 2013. Development of New Strategy for Non-Antibiotic Therapy: Bovine Lactoferrin Has a Potent Antimicrobial and Immunomodulator Effects. In : *Advances in Infectious Diseases* [en ligne]. 2013. pp. 185-192. [Consulté le 19 août 2024]. Disponible à l'adresse : <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/aid.2013.33027>

HALASA, T., NIELEN, M., WHIST, A. C. et OSTERÅS, O., 2009. Meta-analysis of dry cow management for dairy cattle. Part 2. Cure of existing intramammary infections. *Journal of Dairy Science*. juillet 2009. Vol. 92, n° 7, pp. 3150-3157. DOI 10.3168/jds.2008-1741.

HAN, Jee Eun, KIM, Ji Hyung, HWANG, Sun Young, CHORESCA, Casiano H., SHIN, Sang Phil, JUN, Jin Woo, CHAI, Ji Young, PARK, Yong Ho et PARK, Se Chang, 2013. Isolation and characterization of a *Myoviridae* bacteriophage against *Staphylococcus aureus* isolated from dairy cows with mastitis. *Research in Veterinary Science*. 1 octobre 2013. Vol. 95, n° 2, pp. 758-763. DOI 10.1016/j.rvsc.2013.06.001.

HARLET, Marie, 2012. *Mammites de la vache laitière: étude de l'efficacité d'un mélange d'huiles essentielles par application cutanée locale dans 34 élevages bretons*. Thèse d'exercice. Nantes, France : Nantes Université. Pôle Santé. UFR Médecine et Techniques Médicales.

HASSAN, A. A., KHAN, I. U., ABDULMAWJOOD, A. et LÄMMLER, C., 2001. Evaluation of PCR methods for rapid identification and differentiation of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis*. *Journal of Clinical Microbiology*. avril 2001. Vol. 39, n° 4, pp. 1618-1621. DOI 10.1128/JCM.39.4.1618-1621.2001.

HAZARDS (BIOHAZ), EFSA Panel on Biological, 2015. Scientific Opinion on the public health risks related to the consumption of raw drinking milk. *EFSA Journal*. 2015. Vol. 13, n° 1, pp. 3940. DOI 10.2903/j.efsa.2015.3940.

HEIKKILÄ, LISKI, PYÖRÄLÄ et TAPONEN, 2018. Pathogen-specific production losses in bovine mastitis. . 2018. Vol. 101, n° 10.

HERR, Marie, DESCATHA, Alexis et AEGERTER, Philippe, 2017. Essais de non-infériorité et d'équivalence: points clés de méthodologie. *La revue de médecine interne*. 22 août 2017.

HILLERTON, J. Eric et BERRY, Elizabeth A., 2003. The management and treatment of environmental streptococcal mastitis. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. mars 2003. Vol. 19, n° 1, pp. 157-169. DOI 10.1016/s0749-0720(02)00069-5.

HILLERTON, J Eric et KLIEM, Kirsty E, 2002. Effective Treatment of Streptococcus uberis Clinical Mastitis to Minimize the Use of Antibiotics. . 2002. Vol. 85, n° 4.

HILLERTON, J. Eric et SEMMENS, Joanne E., 1999. Comparison of Treatment of Mastitis by Oxytocin or Antibiotics Following Detection According to Changes in Milk Electrical Conductivity Prior to Visible Signs. *Journal of Dairy Science*. 1 janvier 1999. Vol. 82, n° 1, pp. 93-98. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(99)75213-6.

HOGVEEN, Henk, STEENEVELD, Wilma et WOLF, Christopher A., 2019. Production Diseases Reduce the Efficiency of Dairy Production: A Review of the Results, Methods, and Approaches Regarding the Economics of Mastitis. *Annual Review of Resource Economics*. 5 octobre 2019. Vol. 11, n° Volume 11, 2019, pp. 289-312. DOI 10.1146/annurev-resource-100518-093954.

HUCKER, G. J., 1933. Relationships of Leucocytes and Streptococci to Fibrosis of the Udder. *American Journal of Public Health and the Nation's Health*. mars 1933. Vol. 23, n° 3, pp. 237-245. DOI 10.2105/ajph.23.3.237.

IGOHO-MORADEL, Michaëlla, 2023a. Un consensus d'experts sur le traitement des mammites sévères. *La Semaine Vétérinaire*. 16 juin 2023. N° 1994.

IGOHO-MORADEL, Michaëlla, 2023b. EARS-Vet, une étude pilote pour étendre le Résapath au niveau européen. *Le Point Vétérinaire Actualités*. 30 novembre 2023.

INRAE, 2022. L'élevage laitier aujourd'hui dans le monde. *inrae.fr* [en ligne]. 27 septembre 2022. [Consulté le 25 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.inrae.fr/dossiers/vaches-laitieres-lavenir-est-il-pre/lelevage-laitier-aujourd'hui-monde>

INSTITUT DE L'ELEVAGE et CONFÉDÉRATION NATIONALE DE L'ELEVAGE, 2022. *Bovins 2021 : Productions lait et viande*.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 2011. 338/1999 : *Suggested Interpretation of Mastitis Terminology*. Bulletin of IDF. Brussels.

INTERPROFESSION LAITIÈRE, 2019. *ACCORD INTERPROFESSIONNEL NATIONAL relatif à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache et aux modalités de prise en charge des coûts* [en ligne]. [Consulté le 16 juin 2024]. Disponible à l'adresse : [https://info.agriculture.gouv.fr/boagri/document\\_administratif-449be68e-8ac1-45cb-b814-8c3f60bd1c92](https://info.agriculture.gouv.fr/boagri/document_administratif-449be68e-8ac1-45cb-b814-8c3f60bd1c92)

- JAEG, Jean-Philippe, 2020. Toxicologie des aliments : évaluation du risque. . Cours magistral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 2020.
- JAMALI, Hossein, RADMEHR, Behrad et ISMAIL, Salmah, 2014. Short communication: Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*. 1 avril 2014. Vol. 97, n° 4, pp. 2226-2230. DOI 10.3168/jds.2013-7509.
- JAYARAO, B. M., OLIVER, S. P., TAGG, J. R. et MATTHEWS, K. R., 1991. Genotypic and phenotypic analysis of *Streptococcus uberis* isolated from bovine mammary secretions. *Epidemiology and Infection*. décembre 1991. Vol. 107, n° 3, pp. 543-555.
- JONES, Geoff, BORK, Olaf, FERGUSON, Scott A. et BATES, Andrew, 2019. Comparison of an on-farm point-of-care diagnostic with conventional culture in analysing bovine mastitis samples. *The Journal of Dairy Research*. mai 2019. Vol. 86, n° 2, pp. 222-225. DOI 10.1017/S0022029919000177.
- JØRGENSEN, Elin, KRÖMKER, Volker, PEDERSEN, DAHL-PEDERSEN, BUHL et BJARNSHOLT, 2021. Biofilm Research in Bovine Mastitis. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. Vol. 8.
- KABELITZ, Tina, AUBRY, Etienne, VAN VORST, Kira, AMON, Thomas et FULDE, Marcus, 2021. The Role of *Streptococcus* spp. in Bovine Mastitis. *Microorganisms*. 13 juillet 2021. Vol. 9, n° 7, pp. 1497. DOI 10.3390/microorganisms9071497.
- KAE, Mullen, RL, Lyman, SP, Washburn, RE, Baynes et KL, Anderson, 2018. Short communication: Effect of 3 phytoceutical products on elimination of bacteria in experimentally induced *Streptococcus uberis* clinical mastitis. *Journal of dairy science* [en ligne]. novembre 2018. Vol. 101, n° 11. [Consulté le 19 juin 2024]. DOI 10.3168/jds.2017-14279. Disponible à l'adresse : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30172391/>
- KALIŃSKA, Aleksandra, GOŁĘBIEWSKI, Marcin et WÓJCIK, Agata, 2017. Mastitis pathogens in dairy cattle - a review. *World Scientific News*. 22 novembre 2017. Vol. Volume 89, pp. 22-31.
- KALMUS, P, SIMOJOKI, ORRO et TAPONEN, 2014. Efficacy of 5-day parenteral versus intramammary benzylpenicillin for treatment of clinical mastitis caused by gram-positive bacteria susceptible to penicillin in vitro. . 2014. Vol. 97, n° 4.
- KAN, Xingchi, HU, Guiqiu, LIU, Yiyao, XU, Ping, HUANG, Yaping, CAI, Xiangyu, GUO, Wenjin, FU, Shoupeng et LIU, Juxiong, 2022. Mammary Fibrosis Tendency and Mitochondrial Adaptability in Dairy Cows with Mastitis. *Metabolites*. 28 octobre 2022. Vol. 12, n° 11, pp. 1035. DOI 10.3390/metabo12111035.
- KASA, Gezehagn, TEGEGNE, Betelihem et TADESSE, Belege, 2020. Isolation and Identification of Major Pathogenic Bacteria from Clinical Mastitic Cows in Asella Town, Ethiopia. *Veterinary Medicine International*. 16 novembre 2020. Vol. 2020, pp. 1-6. DOI 10.1155/2020/6656755.
- KATEETE, David, KABUGO, Usuf, BALUKU, Hannington, LUKE, Nyakarahuka, KYOBE, Samuel, MOSES, Okee, NAJJUKA, Christine et JOLOBA, Moses, 2013. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Bacteria from Milkmen and Cows with Clinical Mastitis in and around Kampala, Uganda. *PloS one*. 7 mai 2013. Vol. 8, pp. e63413. DOI 10.1371/journal.pone.0063413.

- KHAN, I. U., HASSAN, A. A., ABDULMAWJOOD, A., LÄMMLER, C., WOLTER, W. et ZSCHÖCK, M., 2003. Identification and epidemiological characterization of *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis using conventional and molecular methods. *Journal of Veterinary Science*. décembre 2003. Vol. 4, n° 3, pp. 213-224.
- KHAN, Muhammad Zahoor, MA, Yulin, XIAO, Jianxin, CHEN, Tianyu, MA, Jiaying, LIU, Shuai, WANG, Yajing, KHAN, Adnan, ALUGONGO, Gibson Maswayi et CAO, Zhijun, 2022. Role of Selenium and Vitamins E and B9 in the Alleviation of Bovine Mastitis during the Periparturient Period. . 2022.
- KHAN, Muhammad Zahoor, WANG, Jingjun, MA, Yulin, CHEN, Tianyu, MA, Mei, ULLAH, Qudrat, KHAN, Ibrar Muhammad, KHAN, Adnan, CAO, Zhijun et LIU, Shuai, 2023. Genetic polymorphisms in immune- and inflammation-associated genes and their association with bovine mastitis resistance/susceptibility. *Frontiers in Immunology*. 2023.
- KIM, Hyeon-Jin, YOUN, Hye-Young, KANG, Hye-Jeong, MOON, Jin-San, JANG, Yong-Seok, SONG, Kwang-Young et SEO, Kun-Ho, 2022. Prevalence and Virulence Characteristics of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in Bovine Mastitis Milk Compared to Bovine Normal Raw Milk in South Korea. *Animals*. janvier 2022. Vol. 12, n° 11, pp. 1407. DOI 10.3390/ani12111407.
- KLOSTERMANN, Katja, CRISPIE, Fiona, FLYNN, James, ROSS, R. Paul, HILL, Colin et MEANEY, William, 2008. Intramammary infusion of a live culture of *Lactococcus lactis* for treatment of bovine mastitis: comparison with antibiotic treatment in field trials. *The Journal of Dairy Research*. août 2008. Vol. 75, n° 3, pp. 365-373. DOI 10.1017/S0022029908003373.
- KNAPPSTEIN, Karin, SUHREN, Gertraud et WALTE, Hans-Georg, 2003. Influence of milking frequency on withdrawal period after application of  $\beta$ -lactam antibiotic-based drugs. *Analytica Chimica Acta*. 2003.
- KOIVULA, Minna, PITKÄLÄ, Anna, PYÖRÄLÄ, Satu et MÄNTYSAARI, Esa, 2007. Distribution of bacteria and seasonal and regional effects in a new database for mastitis pathogens in Finland. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science*. 1 juin 2007. Vol. 57, pp. 89-96. DOI 10.1080/09064700701488941.
- KOUAHO, Frédéric Harding, TOURE, A., GOURO, A., HULEA, A., GUILLAUME, Gragnon et HERMAN, Viorel, 2023. Antibiotic Sensitivity of Pathogenic Bacteria Associated with Subclinical Mastitis of Dairy Cows in the Poro Region of the Ivory Coast. *European Journal of Nutrition & Food Safety*. 24 décembre 2023. Vol. 15, pp. 78-93. DOI 10.9734/ejnf/2023/v15i121369.
- KOUR, Savleen, SHARMA, Neelesh, N., Balaji, KUMAR, Pavan, SOODAN, Jasvinder Singh, DOS SANTOS, Marcos Veiga et SON, Young-Ok, 2023. Advances in Diagnostic Approaches and Therapeutic Management in Bovine Mastitis. *Veterinary Sciences*. 8 juillet 2023. Vol. 10, n° 7, pp. 449. DOI 10.3390/vetsci10070449.
- KRÖMKER, V et LEIMBACH, S, 2017. Mastitis treatment—Reduction in antibiotic usage in dairy cows. . 2017.
- KRÖMKER, Volker, PADUCH, Jan-Hendrik, KLOCKE, Doris, FRIEDRICH, Julia et ZINKE, Claudia, 2010. Efficacy of extended intramammary therapy to treat moderate and severe clinical mastitis in lactating dairy cows. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 1 mars 2010. Vol. 123, n° 3-4, pp. 147-152.



- KRUZE, J. et BRAMLEY, A. J., 1982. Sources of *Streptococcus uberis* in the dairy herd. II. Evidence of colonization of the bovine intestine by *Str. uberis*. *The Journal of Dairy Research*. août 1982. Vol. 49, n° 3, pp. 375-379. DOI 10.1017/s0022029900022512.
- KUTILA, T., SUOJALA, L., LEHTOLAINEN, T., SALONIEMI, H., KAARTINEN, L., TÄHTI, M., SEPPÄLÄ, K. et PYÖRÄLÄ, S., 2004. The efficacy of bovine lactoferrin in the treatment of cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2004. Vol. 27, n° 4, pp. 197-202. DOI 10.1111/j.1365-2885.2004.00581.x.
- LABORATOIRE BIOVÉ SAS, 2020. PENETHAONE® 182,5 MG/MLPOUDRE ET SOLVANT POUR SUSPENSION INJECTABLE POUR BOVINS. *Med'Vet* [en ligne]. 13 mai 2020. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://med-vet.fr/produits/medicament/penethaone-182-5-mgmlpoudre-et-solvant-pour/0b147578-05f2-41ce-a5cb-e020293c8f3f>
- LABORATOIRE HIPRA, 2018. RCP Vaccin UBAC® Emulsion injectable pour bovins. . 2018.
- LAM, T. J. G. M., 1996. *Dynamics of bovine mastitis*. Utrecht University.
- LANDIS, J. Richard et KOCH, Gary G., 1977. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics*. 1977. Vol. 33, n° 1, pp. 159-174. DOI 10.2307/2529310.
- LANGHORNE, Charlotte, DAS GUPTA, Suman, HORSMAN, Sara et WOOD, Caitlin, 2023. Bacterial culture and antimicrobial susceptibility results from bovine milk samples submitted to four veterinary diagnostic laboratories in Australia from 2015 to 2019. *Frontiers in Veterinary Science*. 10 août 2023.
- LE LOIR, Yves et EVEN, Sergine, 2017. Probiotiques et prévention sanitaire chez les bovins. *Le Point Vétérinaire Expert Rural*. 1 janvier 2017. N° 372, pp. 68-71.
- LE PAGE, Philippe, 2014. Traitement et prévention des mammites bovines : actualités. *La Dépêche Technique*. juin 2014. N° 136, pp. 39.
- LEEFLANG, Mariska M. G., BOSSUYT, Patrick M. M. et IRWIG, Les, 2009. Diagnostic test accuracy may vary with prevalence: implications for evidence-based diagnosis. *Journal of Clinical Epidemiology*. janvier 2009. Vol. 62, n° 1, pp. 5-12. DOI 10.1016/j.jclinepi.2008.04.007.
- LEELAHAPONGSATHON, K, SCHUKKEN, Y H, SRITHANASUWAN, A et SURIYASATHAPORN, W, 2020. Molecular epidemiology of *Streptococcus uberis* intramammary infections: Persistent and transient patterns of infection in a dairy herd. . 2020. Vol. 103, n° 4.
- LEIGH, J. A., 1993. Activation of bovine plasminogen by *Streptococcus uberis*. *FEMS microbiology letters*. 15 novembre 1993. Vol. 114, n° 1, pp. 67-71. DOI 10.1111/j.1574-6968.1993.tb06552.x.
- LEIGH, J. A., FIELD, T. R. et WILLIAMS, M. R., 1990. Two strains of *Streptococcus uberis*, of differing ability to cause clinical mastitis, differ in their ability to resist some host defence factors. *Research in Veterinary Science*. juillet 1990. Vol. 49, n° 1, pp. 85-87.
- LES MAMMITES, J'ANTICIPE!, 2024. *Impact économique des mammites: les coûts directs et indirects des mammites (manque à gagner)*.

- LI, Longping et ZHANG, Zhiying, 2014. Isolation and characterization of a virulent bacteriophage SPW specific for *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis of lactating dairy cattle. *Molecular Biology Reports*. septembre 2014. Vol. 41, n° 9, pp. 5829-5838. DOI 10.1007/s11033-014-3457-2.
- LIANG, Zeyi, SHEN, Jiahao, LIU, Jing, SUN, Xu, YANG, Yayuan, LV, Yanan, ZHENG, Juanshan, MOU, Xiaoqing, LI, Hongsheng, DING, Xuezhi et YANG, Feng, 2023. Prevalence and Characterization of *Serratia marcescens* Isolated from Clinical Bovine Mastitis Cases in Ningxia Hui Autonomous Region of China. *Infection and Drug Resistance*. 2023. Vol. 16, pp. 2727-2735. DOI 10.2147/IDR.S408632.
- LIN, Yushan, HAN, Jinge, BARKEMA, Herman W., WANG, Yue, GAO, Jian, KASTELIC, John P., HAN, Bo, QIN, Shunyi et DENG, Zhaoju, 2023. Comparative Genomic Analyses of *Lactococcus garvieae* Isolated from Bovine Mastitis in China. YU, Shengqing (éd.), *Microbiology Spectrum*. 15 juin 2023. Vol. 11, n° 3, pp. e02995-22. DOI 10.1128/spectrum.02995-22.
- LODYGA, Monika et HINZ, Boris, 2020. TGF- $\beta$ 1 - A truly transforming growth factor in fibrosis and immunity. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. mai 2020. Vol. 101, pp. 123-139. DOI 10.1016/j.semcdb.2019.12.010.
- LUNDBERG, Å, NYMAN, A.-K., ASPÁN, A., BÖRJESSON, S., UNNERSTAD, H. Ericsson et WALLER, K. Persson, 2016. Udder infections with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, and *Streptococcus uberis* at calving in dairy herds with suboptimal udder health. *Journal of Dairy Science*. mars 2016. Vol. 99, n° 3, pp. 2102-2117. DOI 10.3168/jds.2015-9487.
- MACKIE, D. P., LOGAN, E. F., POLLOCK, D. A. et RODGERS, S. P., 1988. Antibiotic sensitivity of bovine staphylococcal and coliform mastitis isolates over four years. *The Veterinary Record*. 12 novembre 1988. Vol. 123, n° 20, pp. 515-517. DOI 10.1136/vr.123.20.515.
- MADEC, Jean-Yves, 2022. Antibiorésistance chez l'animal en France : quels résultats ? *INRAE Productions Animales*. 2022. N° 4, pp. 275-292.
- MAGDER, Sheldon, MAGDER, Alexandr et SAMOUKOVIC, Gordan, 2021. Intracellular pH regulation and the acid delusion. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. juin 2021. Vol. 99, n° 6, pp. 561-576. DOI 10.1139/cjpp-2020-0631.
- MAKOVEC, Jill A. et RUEGG, Dr Pamela L., 2003. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8,905 samples (1994–2001). . 1 juin 2003. DOI 10.2460/javma.2003.222.1582.
- MALINOWSKI, E., NIEWITECKI, W., NADOLNY, M., LASSA, H. et SMULSKI, S., 2006. Effect of lysozyme dimer injections on results of intramammary treatment of acute mastitis in cows. *Medycyna Weterynaryjna* [en ligne]. 2006. [Consulté le 19 août 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.semanticscholar.org/paper/Effect-of-lysozyme-dimer-injections-on-results-of-Malinowski-Niewitecki/041d6dff3f01dc0b1253f186dbcd97f8f42d1066>
- MANSION-DE VRIES, E. M., HOEDEMAKER, M. et KRÖMKER, V., 2015. Evidence-based aspects of clinical mastitis treatment. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*. 2015. Vol. 43, n° 5, pp. 287-295. DOI 10.15653/TPG-150227.
- MARTINS, Larissa, 2021. Association between antimicrobial use and antimicrobial resistance of *Streptococcus uberis* causing clinical mastitis. . 2021. Vol. 104, n° 11.

- MATER, Nicolas, 2024. Présentation de la technique de PCR isothermale MastiSensor®. *Formation techniques de diagnostic des mammites*. Saint-Flour. 21 mars 2024.
- MATTHEWS, K. R., ALMEIDA, R. A. et OLIVER, S. P., 1994. Bovine mammary epithelial cell invasion by *Streptococcus uberis*. *Infection and Immunity*. décembre 1994. Vol. 62, n° 12, pp. 5641-5646. DOI 10.1128/iai.62.12.5641-5646.1994.
- MATTHEWS, K. R., JAYARAO, B. M., GUIDRY, A. J., ERBE, E. F., WERGIN, W. P. et OLIVER, S. P., 1994. Encapsulation of *Streptococcus uberis*: Influence of storage and cultural conditions. *Veterinary Microbiology*. 1 avril 1994. Vol. 39, n° 3, pp. 361-367. DOI 10.1016/0378-1135(94)90171-6.
- MATTHEWS, K. R., REJMAN, J. J., TURNER, J. D. et OLIVER, S. P., 1994. Proliferation of a Bovine Mammary Epithelial Cell Line in the Presence of Bacterial Virulence Factors. *Journal of Dairy Science*. 1 octobre 1994. Vol. 77, n° 10, pp. 2959-2964. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(94)77237-4.
- MCDONALD, W. L., FRY, B. N. et DEIGHTON, M. A., 2005. Identification of *Streptococcus* spp. causing bovine mastitis by PCR-RFLP of 16S-23S ribosomal DNA. *Veterinary Microbiology*. 20 décembre 2005. Vol. 111, n° 3, pp. 241-246. DOI 10.1016/j.vetmic.2005.10.012.
- MCDOUGALL, S., 2003. Management factors associated with the incidence of clinical mastitis over the non-lactation period and bulk tank somatic cell count during the subsequent lactation. *New Zealand Veterinary Journal*. 1 avril 2003. Vol. 51, n° 2, pp. 63-72. DOI 10.1080/00480169.2003.36342.
- MCDOUGALL, S, AGNEW, K E, CURSONS, R, HOU, X X et COMPTON, C R W, 2007. Parenteral Treatment of Clinical Mastitis with Tylosin Base or Penethamate Hydriodide in Dairy Cattle. . 2007. Vol. 90, n° 2.
- MCDOUGALL, S., BRYAN, M. A. et TIDDY, R. M., 2009. Effect of treatment with the nonsteroidal antiinflammatory meloxicam on milk production, somatic cell count, probability of re-treatment, and culling of dairy cows with mild clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*. septembre 2009. Vol. 92, n° 9, pp. 4421-4431. DOI 10.3168/jds.2009-2284.
- MCDOUGALL, S., PARKINSON, T. J., LEYLAND, M., ANNISS, F. M. et FENWICK, S. G., 2004. Duration of infection and strain variation in *Streptococcus uberis* isolated from cows' milk. *Journal of Dairy Science*. juillet 2004. Vol. 87, n° 7, pp. 2062-2072. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(04)70024-7.
- MCHUGH, Mary L., 2012. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochemia Medica*. 2012. Vol. 22, n° 3, pp. 276-282.
- MESKINI, Zakaria, RECHIDI-SIDHOUM, Nadra, ZOUAOUI, Khadidja, BOUNAAMA, Khalil et HOMRANI, Abdelkader, 2021. Infectious aetiologies of subclinical bovine mastitis and antimicrobial susceptibility on northwest of Algeria. *Veterinaria*. 28 novembre 2021. Vol. 70. DOI 10.51607/22331360.2021.70.3.311.
- MEVIUS, Dik, PELLICAAN, C. et PELT, Wilfrid, 2005. MARAN 2003 : monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in the Netherlands in 2003. . 1 janvier 2005.

MEYBURGH, C. M., BRAGG, R. R. et BOUCHER, C. E., 2017. Lactococcus garvieae: an emerging bacterial pathogen of fish. *Diseases of Aquatic Organisms*. 8 février 2017. Vol. 123, n° 1, pp. 67-79. DOI 10.3354/dao03083.

MINÉRY, Stéphanie et BALLOT, Nadine, 2015. *LES OUTILS GENETIQUES POUR AIDER À LA MAITRISE DES CELLULES ET DES MAMMITES CLINIQUES*. Institut de l'Élevage.

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT, 2017. Bulletin officiel du Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et la forêt n° 2017-9 : *Cahier des charges de l'appellation d'origine « Saint-Nectaire »*. JORF du 23 février 2017.

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA SOUVERAINETÉ ALIMENTAIRE, 2023. *Plan EcoAntibio3*.

MIOTTI, Camila, CICOTELLO, Joaquín, SUAREZ ARCHILLA, NEDER, Verónica et ALVARADO LUCERO, 2023. Antimicrobial resistance of Streptococcus uberis isolated from bovine mastitis: Systematic review and meta-analysis. *Research in Veterinary Science*. 1 novembre 2023. Vol. 164. DOI 10.1016/j.rvsc.2023.105032.

MOGICATO, Giovanni, 2019. Anatomie : les mamelles. . 9 septembre 2019.

MONAGHAN, Thomas F., RAHMAN, Syed N., AGUDELO, Christina W., WEIN, Alan J., LAZAR, Jason M., EVERAERT, Karel et DMOCHOWSKI, Roger R., 2021. Foundational Statistical Principles in Medical Research: Sensitivity, Specificity, Positive Predictive Value, and Negative Predictive Value. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. 16 mai 2021. Vol. 57, n° 5, pp. 503. DOI 10.3390/medicina57050503.

MPATSWENUMUGABO, Jean, BEBORA, Lily, GITAO, George, MOBEGI, Victor, IRAGUHA, Blaise, KAMANA, Olivier et SHUMBUSHO, Benjamin, 2017. Prevalence of Subclinical Mastitis and Distribution of Pathogens in Dairy Farms of Rubavu and Nyabihu Districts, Rwanda. *Journal of Veterinary Medicine*. 17 juillet 2017. Vol. 2017. DOI 10.1155/2017/8456713.

MUSSER, Jeffrey M. B., ANDERSON, Kevin L., CABALLERO, Magaly, AMAYA, Daniel et MAROTO-PUGA, Jorge, 1998. Evaluation of a hand-held electrical conductivity meter for detection of subclinical mastitis in cattle. *American Journal of Veterinary Research* [en ligne]. 1998. [Consulté le 21 août 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.semanticscholar.org/paper/Evaluation-of-a-hand-held-electrical-conductivity-Musser-Anderson/feab78c19bfaa536163052976b4430f4efc60716>

MYLLYS, V., ASPLUND, K., BROFELDT, E., HIRVELÄ-KOSKI, V., HONKANEN-BUZALSKI, T., JUNTILA, J., KULKAS, L., MYLLYKANGAS, O., NISKANEN, M., SALONIEMI, H., SANDHOLM, M. et SARANPÄÄ, T., 1998. Bovine mastitis in Finland in 1988 and 1995--changes in prevalence and antimicrobial resistance. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 1998. Vol. 39, n° 1, pp. 119-126. DOI 10.1186/BF03547813.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2024a. Penethamate. *PubChem* [en ligne]. 2024. [Consulté le 6 août 2024]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71797>

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2024b. Penicillin G. *PubChem* [en ligne]. 2024. [Consulté le 6 août 2024]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5904>

- NICHOLAS, R A J et AYLING, R D, 2003. *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science*. 2003.
- NIELSEN, Christel, 2009. Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows. . 2009.
- OBSERVATOIRE DES CELLULES, 2024. *Évolution du niveau de cellules somatiques dans le lait et dynamique d'infection des élevages français*.
- OCAK, F., TURKYILMAZ, M. K. et TURKYILMAZ, S., 2024. The Relationship between Biofilm Formation and Multiple Antibiotic Resistance of *Streptococcus* Isolates from Bovine Milk with Mastitis. *ISRAEL JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE*. mars 2024. Vol. 79, n° 1, pp. 50-62.
- OHNISHI, Mamoru, SAWADA, Takuo, HIROSE, Kazuhiko, SATO, Reiichiro, HAYASHIMOTO, Mizuki, HATA, Eiji, YONEZAWA, Chizuko et KATO, Hajime, 2011. Antimicrobial susceptibilities and bacteriological characteristics of bovine *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* isolates from Mastitis. *Veterinary Microbiology*. 29 décembre 2011. Vol. 154, n° 1, pp. 202-207. DOI 10.1016/j.vetmic.2011.06.023.
- OLIVARES-PÉREZ, Jaime, KHOLIF, Ahmed Eid, ROJAS-HERNÁNDEZ, Saul, ELGHANDOUR, Mona Mohamed Mohamed Yasseen, SALEM, Abdelfattah Zeidan Mohamed, BASTIDA, Adrian Zaragoza, VELÁZQUEZ-REYNOSO, David, CIPRIANO-SALAZAR, Moisés, CAMACHO-DÍAZ, Luis Miguel, ALONSO-FRESÁN, María Uxúa et DILORENZO, Nicolas, 2015. Prevalence of bovine subclinical mastitis, its etiology and diagnosis of antibiotic resistance of dairy farms in four municipalities of a tropical region of Mexico. *Tropical Animal Health and Production*. décembre 2015. Vol. 47, n° 8, pp. 1497-1504. DOI 10.1007/s11250-015-0890-8.
- OLIVEIRA, Thais Cristina de Assis, BRITO, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva, MARVAL, Marcia Giambiagi-de, VICENTINI, Nívea Maria et LANGE, Carla Christine, 2021. Identification of bovine mastitis pathogens using MALDI-TOF mass spectrometry in Brazil. *Journal of Dairy Research*. août 2021. Vol. 88, n° 3, pp. 302-306. DOI 10.1017/S0022029921000595.
- OLIVER, S. P., ALMEIDA, R. A. et CALVINHO, L. F., 1998. Virulence Factors of *Streptococcus uberis* Isolated From Cows With Mastitis. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 1998. Vol. 45, n° 1-10, pp. 461-471. DOI 10.1111/j.1439-0450.1998.tb00817.x.
- OLIVER, S. P., ALMEIDA, R. A., GILLESPIE, B. E., HEADRICK, S. J., DOWLEN, H. H., JOHNSON, D. L., LAMAR, K. C., CHESTER, S. T. et MOSELEY, W. M., 2004. Extended ceftiofur therapy for treatment of experimentally-induced *Streptococcus uberis* mastitis in lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. octobre 2004. Vol. 87, n° 10, pp. 3322-3329. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(04)73468-2.
- OLIVER, S. P., GILLESPIE, B. E. et JAYARAO, B. M., 1998. Detection of new and persistent *Streptococcus uberis* and *Streptococcus dysgalactiae* intramammary infections by polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. *FEMS microbiology letters*. 1 mars 1998. Vol. 160, n° 1, pp. 69-73. DOI 10.1111/j.1574-6968.1998.tb12892.x.
- OLIVER, Stephen P., MURINDA, Shelton E. et JAYARAO, Bhushan M., 2011. Impact of antibiotic use in adult dairy cows on antimicrobial resistance of veterinary and human pathogens: a comprehensive review. *Foodborne Pathogens and Disease*. mars 2011. Vol. 8, n° 3, pp. 337-355. DOI 10.1089/fpd.2010.0730.

OLTENACU, Pascal et BROOM, Donald, 2010. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal Welfare*. 1 mai 2010. Vol. 19. DOI 10.1017/S0962728600002220.

O'NEILL, Jim, 2014. *Antimicrobial resistance : tackling a crisis for the health and wealth of nations*.

OSTERÅS, O., EDGE, V. L. et MARTIN, S. W., 1999. Determinants of success or failure in the elimination of major mastitis pathogens in selective dry cow therapy. *Journal of Dairy Science*. juin 1999. Vol. 82, n° 6, pp. 1221-1231. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(99)75345-2.

OZGUDEN-AKKOC, Cansel Guzin, MUTLU, Ayse Meric, KESKIN, Abduelkadir, YUMUSAK, Ezgi et AKKOC, Ahmet, 2023. Phenotypic evaluation of mast cells in bovine mammary tissue and mastitis in the context of fibrosis. *JOURNAL OF DAIRY RESEARCH*. novembre 2023. Vol. 90, n° 4, pp. 387-392. DOI 10.1017/S0022029923000651.

PASSCHYN, Pieter, PIEPERS, Sofie, SCHMITT-VAN DE LEEMPUT, Ellen, GUIDARINI, Christian et DE VliegHER, Sarne, 2010. Concentration of penicillin G in mammary tissue and secretion of end-term dairy heifers following systemic prepartum administration of penethamate hydriodide. *Journal of Dairy Research*. février 2010. Vol. 77, n° 1, pp. 33-36. DOI 10.1017/S0022029909990288.

PATEL, Dilip, ALMEIDA, Raúl A., DUNLAP, John R. et OLIVER, Stephen P., 2009. Bovine lactoferrin serves as a molecular bridge for internalization of *Streptococcus uberis* into bovine mammary epithelial cells. *Veterinary Microbiology*. 12 juin 2009. Vol. 137, n° 3-4, pp. 297-301. DOI 10.1016/j.vetmic.2009.01.013.

PATTI, J. M., ALLEN, B. L., MCGAVIN, M. J. et HÖÖK, M., 1994. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annual Review of Microbiology*. 1994. Vol. 48, pp. 585-617. DOI 10.1146/annurev.mi.48.100194.003101.

PÉTON, Vincent, 2014. *Identification de facteurs de Staphylococcus aureus impliqués dans la sévérité et la chronicité des mammites*. Thèse de doctorat. 2008-2019, France : Agrocampus Ouest.

PITKÄLÄ, Anna, KOORT, Joanna et BJÖRKROTH, Katri, 2008. Identification and Antimicrobial Resistance of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis* Isolated from Bovine Milk Samples. *Journal of dairy science*. 1 novembre 2008. Vol. 91, pp. 4075-81. DOI 10.3168/jds.2008-1040.

POUTREL, B, 2019. Les mammites à *Streptococcus uberis* : revue. *Le Point Vétérinaire*. novembre 2019. N° 400.

POUTREL, B. et RYNIEWICZ, H. Z., 1984. Evaluation of the API 20 Strep system for species identification of streptococci isolated from bovine mastitis. *Journal of Clinical Microbiology*. février 1984. Vol. 19, n° 2, pp. 213-214. DOI 10.1128/jcm.19.2.213-214.1984.

POUTREL, Bernard, 2015. Prévalence en France des pathogènes impliqués dans les mammites. In : *Journées Nationales du GTV 2015*. 1 janvier 2015. pp. 733.

POUTREL, Bernard et FROMAGEAU, ANGELINA, 2008. Estimation de la prévalence des pathogènes impliqués dans les mammites cliniques aiguës. *BULLETIN DES GROUPEMENTS TECHNIQUES VÉTÉRINAIRES*. 1 mars 2008. pp. 65-68.

PRESCOTT, John F., 2013. Beta-lactam Antibiotics. In : *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. John Wiley & Sons, Ltd. pp. 153-173. ISBN 978-1-118-67501-4.

- PRYOR, S. M., CURSONS, R. T., WILLIAMSON, J. H. et LACY-HULBERT, S. J., 2009. Experimentally induced intramammary infection with multiple strains of *Streptococcus uberis*. *Journal of Dairy Science*. 1 novembre 2009. Vol. 92, n° 11, pp. 5467-5475. DOI 10.3168/jds.2009-2223.
- PYÖRÄLÄ, S., 2009. Treatment of mastitis during lactation. *Irish Veterinary Journal*. 2009. Vol. 62, n° Suppl 4, pp. S40. DOI 10.1186/2046-0481-62-S4-S40.
- RABIEE, A. R. et LEAN, I. J., 2013. The effect of internal teat sealant products (Teatseal and Orbeseal) on intramammary infection, clinical mastitis, and somatic cell counts in lactating dairy cows: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. 2013. Vol. 96, n° 11, pp. 6915-6931. DOI 10.3168/jds.2013-6544.
- RABOISSON, Didier, FERCHIOU, Ahmed, PINIOR, Beate, GAUTIER, Thomas, SANS, Pierre et LHERMIE, Guillaume, 2020. The Use of Meta-Analysis for the Measurement of Animal Disease Burden: Losses Due to Clinical Mastitis as an Example. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020. Vol. 7, pp. 149. DOI 10.3389/fvets.2020.00149.
- RADZIKOWSKI, Daniel et OSTASZEWSKA, Urszula, 2020. Alternative solutions to antibiotics in mastitis treatment for dairy cows - a review. *Animal Science Papers and Reports*. 2020. Vol. 38, n° 2, pp. 117-133.
- RAHMAN, M. M., MAZZILLI, M., PENNAROSSA, G., BREVINI, T. a. L., ZECCONI, A. et GANDOLFI, F., 2012. Chronic mastitis is associated with altered ovarian follicle development in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. avril 2012. Vol. 95, n° 4, pp. 1885-1893. DOI 10.3168/jds.2011-4815.
- RAINARD, 2019. Les vaccins avec AMM pour les mammites : qu'en attendre réellement ? *La Semaine Vétérinaire*. 13 décembre 2019. N° 1834.
- RAINARD, Pascal, GILBERT, Florence et GERMON, Pierre, 2022. Immune defenses of the mammary gland epithelium of dairy ruminants. *Frontiers in Immunology*. 2022.
- RAJALA-SCHULTZ, Päivi, NØDTVEDT, Ane, HALASA, Tariq et PERSSON WALLER, Karin, 2021. Prudent Use of Antibiotics in Dairy Cows: The Nordic Approach to Udder Health. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. Vol. 8, pp. 623998. DOI 10.3389/fvets.2021.623998.
- RASMUSSEN, Folke, 1959. Mammary Excretion of Benzylpenicillin, Erythromycin, and Penethamate Hydroiodide ). *Acta Pharmacologica et Toxicologica*. 1959. Vol. 16, n° 2, pp. 194-200. DOI 10.1111/j.1600-0773.1959.tb01201.x.
- Règlement (CE) n° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale*, 2004. .
- RÉMY, Dominique, 2010. *Les mammites: guides*. Paris : France agricole. ISBN 978-2-85557-171-3. 636.208 96
- REN, Qiang, LIAO, Guanghua, WU, Zihao, LV, Junfan et CHEN, Wei, 2020. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from subclinical bovine mastitis in southern Xinjiang, China. *Journal of Dairy Science*. 1 avril 2020. Vol. 103, n° 4, pp. 3368-3380. DOI 10.3168/jds.2019-17420.
- RESAPATH, 2024a. *Tendance des résistances entre 2006 et 2022 - Mammites bovines à E. coli* [en ligne]. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://shiny-public.anses.fr/resapath2/>

- RESAPATH, 2024b. *Tendance des résistances entre 2006 et 2022 - Mammites bovines à staphylocoques coagulase-positifs* [en ligne]. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://shiny-public.anses.fr/resapath2/>
- RESAPATH, 2024c. *Tendance des résistances entre 2006 et 2022 - Mammites bovines à SCN* [en ligne]. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://shiny-public.anses.fr/resapath2/>
- RESAPATH, 2024d. *Tendance des résistances entre 2012 et 2022 - Mammites bovines à S. uberis* [en ligne]. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://shiny-public.anses.fr/resapath2/>
- RISCO, Carlos et MELENDEZ, Pedro, 2011. *Dairy Production Medicine*. John Wiley & Sons. ISBN 978-0-470-96053-0.
- ROBERSON, Jerry R, 2003. Establishing treatment protocols for clinical mastitis. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 2003. N° 19, pp. 223-234.
- RODRIGUES, D.s., LANNES-COSTA, P.s., SANTOS, G.s., RIBEIRO, R.l., LANGONI, H., TEIXEIRA, L.m. et NAGAO, P.e., 2022. Antimicrobial resistance, biofilm production and invasion of mammary epithelial cells by *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus mundtii* strains isolated from bovine subclinical mastitis in Brazil. *Letters in Applied Microbiology*. août 2022. Vol. 75, n° 2, pp. 184-194. DOI 10.1111/lam.13718.
- ROGUINSKY, M, 1971. Caractères biochimiques et sérologiques de *Streptococcus uberis*. *Annales de l'Institut Pasteur Paris*. 1971. N° 120, pp. 154-163.
- ROHNER, Peter, SCHÄLLIBAUM, Melchior et NICOLET, Jacques, 1985. Detection of Penicillin G and its Benzylpenicilloyl (BPO) - Derivatives in Cow Milk and Serum by means of an ELISA. *Journal of Food Protection*. janvier 1985. Vol. 48, n° 1, pp. 59-62. DOI 10.4315/0362-028X-48.1.59.
- ROSSI, R. S., AMARANTE, A. F., CORREIA, L. B. N., GUERRA, S. T., NOBREGA, D. B., LATOSINSKI, G. S., ROSSI, B. F., RALL, V. L. M. et PANTOJA, J. C. F., 2018. Diagnostic accuracy of Somaticell, California Mastitis Test, and microbiological examination of composite milk to detect *Streptococcus agalactiae* intramammary infections. *Journal of Dairy Science*. novembre 2018. Vol. 101, n° 11, pp. 10220-10229. DOI 10.3168/jds.2018-14753.
- ROUDAUT, Brigitte, FOURNET, Isabelle et HURTAUD-PESSEL, D, 2017. Recherche de résidus d'antibiotiques dans la filière bovine française : des progrès à intensifier. *Le Point Vétérinaire Expert Rural*. juin 2017. N° 376.
- RUBENS, C E, SMITH, S, HULSE, M, CHI, E Y et VAN BELLE, G, 1992. Respiratory epithelial cell invasion by group B streptococci. *Infection and Immunity*. décembre 1992. Vol. 60, n° 12, pp. 5157-5163. DOI 10.1128/iai.60.12.5157-5163.1992.
- RUEGG, P. L., OLIVEIRA, L., JIN, W. et OKWUMABUA, O., 2015. Phenotypic antimicrobial susceptibility and occurrence of selected resistance genes in gram-positive mastitis pathogens isolated from Wisconsin dairy cows. *Journal of Dairy Science*. juillet 2015. Vol. 98, n° 7, pp. 4521-4534. DOI 10.3168/jds.2014-9137.
- RUEGG, Pamela L, 2017. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. . 2017. Vol. 100, n° 12.



- RUPP, R et BOICHARD, D, 1999. Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, Production, Udder Type Traits, and Milking Ease in First Lactation Holsteins. . 1999. Vol. 82, n° 10.
- SAENZ-DE-JUANO, Mara D., SILVESTRELLI, Giulia et ULBRICH, Susanne E., 2024. One-week storage of refrigerated bovine milk does not affect the size, concentration, or molecular properties of extracellular vesicles. *Journal of Dairy Science*. 1 février 2024. Vol. 107, n° 2, pp. 1164-1174. DOI 10.3168/jds.2023-23726.
- SALAT, O, SÉRIEYS, F, POUTREL, B, DUREL, L et GOBY, L, 2008. Systemic Treatment of Subclinical Mastitis in Lactating Cows with Penethamate Hydriodide. . 2008. Vol. 91, n° 2.
- SALAT, Olivier, 2017. La bactériologie du lait. *Le Point Vétérinaire*. 2017.
- SALAT, Olivier, 2024. Les tests rapides d'identification bactérienne. *Formation techniques de diagnostic des mammites*. Présentation. Saint-Flour. 21 mars 2024.
- SALAT, Olivier, LEMAIRE, Guillaume, DUREL, Luc et PERROT, Florent, 2023. Etiology of severe mastitis in French dairy herds. *PLOS ONE*. 14 décembre 2023. Vol. 18, pp. e0295614. DOI 10.1371/journal.pone.0295614.
- SAMSON, Olivier, SCHMITT, Ellen, GAUDOUT, Nicolas, COUSIN, Sébastien et PERTANT, Bruno, 2016. Expression clinique et modalités d'apparition des mammites à *S. uberis*. *Le Point Vétérinaire Expert Rural*. 1 janvier 2016. N° 362.
- SAMSON, Olivier, SCHMITT, Ellen, GAUDOUT, Nicolas, SCHUKKEN, Ynte H. et ZADOKS, Ruth N, 2016. Use of on-farm data to guide treatment and control of mastitis caused by *Streptococcus uberis*. *Journal of Dairy Science*. 2016. Vol. 99, n° 9, pp. 1-10.
- SANT'ANNA, A. C. et PARANHOS DA COSTA, M. J. R., 2011. The relationship between dairy cow hygiene and somatic cell count in milk. *Journal of Dairy Science*. août 2011. Vol. 94, n° 8, pp. 3835-3844. DOI 10.3168/jds.2010-3951.
- SANZ, Alberto, 2016. Mitochondrial reactive oxygen species: Do they extend or shorten animal lifespan? *Biochimica Et Biophysica Acta*. août 2016. Vol. 1857, n° 8, pp. 1116-1126. DOI 10.1016/j.bbabi.2016.03.018.
- SARGEANT, J. M., LESLIE, K. E., SHIRLEY, J. E., PULKRABEK, B. J. et LIM, G. H., 2001. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. *Journal of Dairy Science*. septembre 2001. Vol. 84, n° 9, pp. 2018-2024. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(01)74645-0.
- SATHIYABARATHI, M., JEYAKUMAR, S., MANIMARAN, A., JAYAPRAKASH, G., PUSHPADASS, Heartwin A., SIVARAM, M., RAMESHA, K. P., DAS, D. N., KATAKTALWARE, Mukund A., PRAKASH, M. Arul et KUMAR, R. Dhinesh, 2016. Infrared thermography: A potential noninvasive tool to monitor udder health status in dairy cows. *Veterinary World*. octobre 2016. Vol. 9, n° 10, pp. 1075-1081. DOI 10.14202/vetworld.2016.1075-1081.
- SCHABAUER, L, TITZ, B et EHLING-SCHULZ, M, 2014. Leitlinie zur Identifizierung boviner Mastitis-assoziiierter *Streptococcus* spp. und verwandten Spezies: Möglichkeiten und Grenzen konventioneller Diagnostik. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. 2014.
- SCHAUFUSS, P., STING, R., SCHAEG, W. et BLOBEL, H., 1989. Isolation and Characterization of Hyaluronidase from *Streptococcus uberis*. *Zentralblatt für Bakteriologie*. 1 mai 1989. Vol. 271, n° 1, pp. 46-53. DOI 10.1016/S0934-8840(89)80052-0.

- SCHEPERS, A. J., LAM, T. J., SCHUKKEN, Y. H., WILMINK, J. B. et HANEKAMP, W. J., 1997. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of Dairy Science*. août 1997. Vol. 80, n° 8, pp. 1833-1840. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(97)76118-6.
- SCHMITT-VAN DE LEEMPUT, Ellen, 2013. L'utilisation du real time PCR – Pathoproof® pour l'identification des pathogènes de mammites sur le terrain. *Journées Nationales du GTV 2013*. 2013. pp. 919-926.
- SCHMITT-VAN DE LEEMPUT, Ellen et SCHMITT-BEURRIER, Annie, 2005. Bactériologie sur le lait en clientèle - Le Point Vétérinaire n° 255 du 01/05/2002. *Le Point Vétérinaire*. 1 mai 2005. N° 255.
- SCHÖNBORN, Sarah, WENTE, Nicole, PADUCH, Jan-Hendrik et KRÖMKER, Volker, 2017. In vitro ability of mastitis causing pathogens to form biofilms. *The Journal of Dairy Research*. 1 mai 2017.
- SCHUKKEN, Y. H., BRONZO, V., LOCATELLI, C., POLLERA, C., ROTA, N., CASULA, A., TESTA, F., SCACCABAROZZI, L., MARCH, R., ZALDUENDO, D., GUIX, R. et MORONI, P., 2014. Efficacy of vaccination on Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *Journal of Dairy Science*. 2014. Vol. 97, n° 8, pp. 5250-5264. DOI 10.3168/jds.2014-8008.
- SCHUKKEN, Y. H. et DELUYKER, H. A., 1995. Design of field trials for the evaluation of antibacterial products for therapy of bovine clinical mastitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. août 1995. Vol. 18, n° 4, pp. 274-283. DOI 10.1111/j.1365-2885.1995.tb00591.x.
- SCHUKKEN, Y. H., SMIT, J. A. H., GROMMERS, F. J., VANDEGEER, D. et BRAND, A., 1989. Effect of Freezing on Bacteriologic Culturing of Mastitis Milk Samples. *Journal of Dairy Science*. 1 juillet 1989. Vol. 72, n° 7, pp. 1900-1906. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(89)79309-7.
- SCHUKKEN, Ynte H., WILSON, David J., WELCOME, Francis, GARRISON-TIKOFSKY, Linda et GONZALEZ, Ruben N., 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*. 2003. Vol. 34, n° 5, pp. 579-596. DOI 10.1051/vetres:2003028.
- SÉRIEYS, F, RAGUET, Y, GOBY, L, SCHMIDT, H et FRITON, G, 2005. Comparative Efficacy of Local and Systemic Antibiotic Treatment in Lactating Cows with Clinical Mastitis. . 2005. Vol. 88, n° 1.
- SÉRIEYS, Francis, 2003. Abord du traitement des infections à Str. uberis. *Le Point Vétérinaire*. 1 octobre 2003. N° 236.
- SHAMAILA, Shahzadi, ZAFAR, Noshin, RIAZ, Saira, SHARIF, Rehana, NAZIR, Jawad et NASEEM, Shahzad, 2016. Gold Nanoparticles: An Efficient Antimicrobial Agent against Enteric Bacterial Human Pathogen. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*. 14 avril 2016. Vol. 6, n° 4, pp. 71. DOI 10.3390/nano6040071.
- SHERWIN, Virginia E., SANTI, Morena, WALKER, Olivia, PICKWELL, Natalie D., COFFEY, Tracey J., LEIGH, James A. et EGAN, Sharon A., 2020. PCR-Based Direct Detection of Streptococcus uberis from Subclinical and Clinical Dairy Cattle Milk Samples. *Veterinary Medicine International*. 2020. Vol. 2020, pp. 8828624. DOI 10.1155/2020/8828624.

SKALKA, Boris et SMOLA, Jiří, 1981. Lethal effect of CAMP-factor and UBERIS-factor — a new finding about diffusible exosubstances of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus uberis*. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. 1. Abt. Originale. A, Medizinische Mikrobiologie, Infektionskrankheiten und Parasitologie*. 1 avril 1981. Vol. 249, n° 2, pp. 190-194. DOI 10.1016/S0174-3031(81)80073-X.

SMITH, A. J., KITT, A. J., WARD, P. N. et LEIGH, J. A., 2002. Isolation and characterization of a mutant strain of *Streptococcus uberis*, which fails to utilize a plasmin derived beta-casein peptide for the acquisition of methionine. *Journal of Applied Microbiology*. 2002. Vol. 93, n° 4, pp. 631-639. DOI 10.1046/j.1365-2672.2002.01723.x.

SNGTV, 2009. *Guide de bonnes pratiques de l'antibiothérapie vétérinaire à l'usage des vétérinaires*. Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires.

ŠPAKOVÁ, T., ELEČKO, J., VASIL, M., LEGÁTH, J., PRISTAŠ, P. et JAVORSKÝ, P., 2012. Limited genetic diversity of *Aerococcus viridans* strains isolated from clinical and subclinical cases of bovine mastitis in Slovakia. *Polish Journal of Veterinary Sciences* [en ligne]. 1 janvier 2012. Vol. 15, n° 2. [Consulté le 4 août 2024]. DOI 10.2478/v10181-012-0051-1. Disponible à l'adresse : <http://journals.pan.pl/dlibra/publication/113987/edition/99045/content>

STEELE, N. M., WILLIAMSON, J. H., THRESHER, R., LAVEN, R. A. et HILLERTON, J. E., 2017. Evaluating a commercial PCR assay against bacterial culture for diagnosing *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* throughout lactation. *Journal of Dairy Science*. 1 mai 2017. Vol. 100, n° 5, pp. 3816-3824. DOI 10.3168/jds.2016-11752.

STEELE, N et MCDUGALL, S, 2014. Effect of prolonged duration therapy of subclinical mastitis in lactating dairy cows using penethama. *New Zealand Veterinary Journal*. 2014.

STEENEVELD, Wilma, SWINKELS, Jantijn et HOGVEEN, Henk, 2007. Stochastic modelling to assess economic effects of treatment of chronic subclinical mastitis caused by *Streptococcus uberis*. *Journal of Dairy Research*. novembre 2007. Vol. 74, n° 4, pp. 459-467. DOI 10.1017/S0022029907002828.

STOLTZFUS, Jill C., 2011. Logistic regression: a brief primer. *Academic Emergency Medicine: Official Journal of the Society for Academic Emergency Medicine*. octobre 2011. Vol. 18, n° 10, pp. 1099-1104. DOI 10.1111/j.1553-2712.2011.01185.x.

STROSE, Suzanne G, SWINKELS, Jantijn M, KREMER, Wim DJ, KRUITWAGEN, Cas LJJ et ZADOKS, Ruth N, 2003. Effect of penethamate hydriodide treatment on bacteriological cure, somatic cell count and milk production of cows and quarters with chronic subclinical *Streptococcus uberis* or *Streptococcus dysgalactiae* infection. *Journal of Dairy Research*. 2003. DOI 10.1017/S0022029903006460.

SULEIMAN, T. S., KARIMURIBO, E. D. et MDEGELA, R. H., 2018. Prevalence of bovine subclinical mastitis and antibiotic susceptibility patterns of major mastitis pathogens isolated in Unguja island of Zanzibar, Tanzania. *Tropical Animal Health and Production*. 1 février 2018. Vol. 50, n° 2, pp. 259-266. DOI 10.1007/s11250-017-1424-3.

SUN, Meng, GAO, Jian, ALI, Tariq, YU, Dan, ZHANG, Shiyao, KHAN, Saeed U., FANNING, Séamus et HAN, Bo, 2017. Characteristics of *Aerococcus viridans* isolated from bovine subclinical mastitis and its effect on milk SCC, yield, and composition. *Tropical Animal Health and Production*. avril 2017. Vol. 49, n° 4, pp. 843-849. DOI 10.1007/s11250-017-1271-2.

SVENNESEN, Line, SKARBYE, FARRE et ASTRUP, 2023. Treatment of mild to moderate clinical bovine mastitis caused by gram-positive bacteria: A noninferiority randomized trial of local penicillin treatment alone or combined with systemic treatment. *Journal of Dairy Science*. 2023. Vol. 106, n° 8.

SWAN, A., 1954. The use of a bile-aesculin medium and of Maxted's technique of Lancefield grouping in the identification of enterococci (group D streptococci). *Journal of Clinical Pathology*. mai 1954. Vol. 7, n° 2, pp. 160-163. DOI 10.1136/jcp.7.2.160.

SWINKELS, Jantijn M., KRÖMKER, Volker et LAM, Theo JGM, 2014. Efficacy of standard vs. extended intramammary cefquinome treatment of clinical mastitis in cows with persistent high somatic cell counts. *Journal of Dairy Research*. novembre 2014. Vol. 81, n° 4, pp. 424-433. DOI 10.1017/S0022029914000442.

TAPONEN, S., DREDGE, K., HENRIKSSON, B., PYYHTIÄ, A.-M., SUOJALA, L., JUNNI, R., HEINONEN, K. et PYÖRÄLÄ, S., 2003. Efficacy of intramammary treatment with procaine penicillin G vs. procaine penicillin G plus neomycin in bovine clinical mastitis caused by penicillin-susceptible, gram-positive bacteria--a double blind field study. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. juin 2003. Vol. 26, n° 3, pp. 193-198. DOI 10.1046/j.1365-2885.2003.00473.x.

THERON, PLUVINAGE, HANZEN et SÉRIEYS, 2010. Bovine mastitis with unusual pathogens: how to manage it in individuals and in the herd. *BULLETIN DES GROUPEMENTS TECHNIQUES VÉTÉRINAIRES*. juin 2010. N° 54.

THOMAS, L. H., HAIDER, W., HILL, A. W. et COOK, R. S., 1994. Pathologic findings of experimentally induced *Streptococcus uberis* infection in the mammary gland of cows. *American Journal of Veterinary Research*. décembre 1994. Vol. 55, n° 12, pp. 1723-1728.

TODHUNTER, D. A., SMITH, K. L. et HOGAN, J. S., 1995. Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*. novembre 1995. Vol. 78, n° 11, pp. 2366-2374. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(95)76864-3.

TOFT, Nils, HALASA, Tariq Hisham Beshara, NIELSEN, S S, HECHINGER, S., ZERVENS, Lisa Marie-Louise, SCHWARZ, D. et KIRKEBY, Carsten Thure, 2019. Composite or aseptic quarter milk samples: Sensitivity and specificity of PCR and bacterial culture of *Staphylococcus aureus* based on Bayesian latent class evaluation. *Preventive Veterinary Medicine*. 2019. Vol. 171, n° 104689. DOI 10.1016/j.prevetmed.2019.05.002.

TURK, Romana, KOLEDIC, Matea, MACESIC, Nino, BENIC, Miroslav, DOBRANIC, Vesna, DURICIC, Drazen, CVETNIC, Luka et SAMARDZIJA, Marko, 2017. The role of oxidative stress and inflammatory response in the pathogenesis of mastitis in dairy cows. *MLJEKARSTVO*. avril 2017. Vol. 67, n° 2, pp. 91-101. DOI 10.15567/mljekarstvo.2017.0201.

TURNIDGE, J. D., 1998. The pharmacodynamics of beta-lactams. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. juillet 1998. Vol. 27, n° 1, pp. 10-22. DOI 10.1086/514622.

UNAKAL, C G et KALIWAL, B B, 2010. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *Veterinary World*. 2010.

VAILATI-RIBONI, M., COLEMAN, D. N., LOPREIATO, V., ALHARTHI, A., BUCKTROUT, R. E., ABDEL-HAMIED, E., MARTINEZ-CORTES, I., LIANG, Y., TREVISI, E., YOON, I. et LOOR, J. J., 2021. Feeding a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product improves udder health and immune response to a *Streptococcus uberis*

mastitis challenge in mid-lactation dairy cows. *JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY*. 8 avril 2021. Vol. 12, n° 1, pp. 62. DOI 10.1186/s40104-021-00560-8.

VAKKAMÄKI, Johanna, TAPONEN, Suvi, HEIKKILÄ, Anna-Majja et PYÖRÄLÄ, Satu, 2017. Bacteriological etiology and treatment of mastitis in Finnish dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 25 mai 2017. Vol. 59, n° 1, pp. 33. DOI 10.1186/s13028-017-0301-4.

VANDAËLE, Eric, 2003. Le pénéthamate traite par voie IM les mammites à Gram +. *Le Point Vétérinaire*. 1 août 2003. N° 238.

VANDER ELST, Niels, BELLEMANS, Julie, LAVIGNE, Rob, BRIERS, Yves et MEYER, Evelyne, 2024. Endolysin NC5 improves early cloxacillin treatment in a mouse model of *Streptococcus uberis* mastitis. *Applied Microbiology and Biotechnology*. décembre 2024. Vol. 108, n° 1, pp. 118. DOI 10.1007/s00253-023-12820-w.

VARHIMO, Emilia, VARMANEN, Pekka, FALLARERO, Adyary, SKOGMAN, Malena, PYÖRÄLÄ, Satu, IIVANAINEN, Antti, SUKURA, Antti, VUORELA, Pia et SAVIJOKI, Kirsi, 2011. Alpha- and  $\beta$ -casein components of host milk induce biofilm formation in the mastitis bacterium *Streptococcus uberis*. *Veterinary Microbiology*. 5 mai 2011. Vol. 149, n° 3, pp. 381-389. DOI 10.1016/j.vetmic.2010.11.010.

VETCARE, 2024. RCP UBROPEN® SUSPENSION INTRAMAMMAIRE POUR VACHES EN LACTATION. *IRCP ANMV Anses* [en ligne]. 31 mai 2024. [Consulté le 17 juin 2024].

Disponible à l'adresse :

<https://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=UBROPEN+SUSPENSION+INTRAMAMMAIRE+POUR+VACHES+EN+LACTATION>

VIRBAC, 2021. RCP RILEXINE® TRAITEMENT. *IRCP ANMV Anses* [en ligne]. 22 décembre 2021. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse :

<https://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=RILEXINE+TRAITEMENT>

WAAGE, S, 1997. Comparison of two regimens for the treatment of clinical bovine mastitis caused by bacteria sensitive to penicillin. *The Veterinary Record*. 1997.

WAAGE, S, SKEI, H R, RISE, J, ROGDO, T, SVILAND, S et ØDEGAARD, S A, 2000. Outcome of Clinical Mastitis in Dairy Heifers Assessed by Reexamination of Cases One Month After Treatment. . 2000. Vol. 83, n° 1.

WANG, Bokai, WANG, Hongyue, TU, Xin M. et FENG, Changyong, 2017. Comparisons of Superiority, Non-inferiority, and Equivalence Trials. *Shanghai Archives of Psychiatry*. 2017. Vol. 29, n° 6, pp. 385-388. DOI 10.11919/j.issn.1002-0829.217163.

WANG, S. M., DEIGHTON, M. A., CAPSTICK, J. A. et GERRATY, N., 1999. Epidemiological typing of bovine streptococci by pulsed-field gel electrophoresis. *Epidemiology and Infection*. octobre 1999. Vol. 123, n° 2, pp. 317-324. DOI 10.1017/s0950268899002745.

WATT, CJ, 1999. *The epidemiology of intramammary infection in dairy cows, with particular reference to Streptococcus uberis*. University of Oxford.

WATTS, J. L., 1988. Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*. janvier 1988. Vol. 16, n° 1, pp. 41-66. DOI 10.1016/0378-1135(88)90126-5.

- WENTE, N, PADUCH, KLOCKE, ZHANG et KRÖMKER, Volker, 2019. Associations between *Streptococcus uberis* strains from the animal environment and clinical bovine mastitis cases. . 2019. Vol. 102, n° 10.
- WENZ, J. R., BARRINGTON, G. M., GARRY, F. B., MCSWEENEY, K. D., DINSMORE, R. P., GOODELL, G. et CALLAN, R. J., 2001. Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 octobre 2001. Vol. 219, n° 7, pp. 976-981. DOI 10.2460/javma.2001.219.976.
- WERNICKI, A., PUCHALSKI, A., URBAN-CHMIEL, R., DEC, M., STEGIERSKA, D., DUDZIC, A. et WÓJCIK, A., 2014. Antimicrobial properties of gold, silver, copper and platinum nanoparticles against selected microorganisms isolated from cases of mastitis in cattle. *Medycyna Weterynaryjna* [en ligne]. 2014. [Consulté le 19 août 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.semanticscholar.org/paper/Antimicrobial-properties-of-gold%2C-silver%2C-copper-of-Wernicki-Puchalski/e0b3d3a2210c1f4d1ed01fc42b2b34756505d4e6>
- WESSELS, M. R., MOSES, A. E., GOLDBERG, J. B. et DICESARE, T. J., 1991. Hyaluronic acid capsule is a virulence factor for mucoid group A streptococci. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1 octobre 1991. Vol. 88, n° 19, pp. 8317-8321. DOI 10.1073/pnas.88.19.8317.
- WILLIAMS, A. M. et COLLINS, M. D., 1990. Molecular taxonomic studies on *Streptococcus uberis* types I and II. Description of *Streptococcus parauberis* sp. nov. *The Journal of Applied Bacteriology*. mai 1990. Vol. 68, n° 5, pp. 485-490. DOI 10.1111/j.1365-2672.1990.tb02900.x.
- WILM, Jensine, SVENNESEN, Line, ØSTERGAARD ERIKSEN, Esben, HALASA, Tariq et KRÖMKER, Volker, 2021. Veterinary Treatment Approach and Antibiotic Usage for Clinical Mastitis in Danish Dairy Herds. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*. 15 février 2021. Vol. 10, n° 2, pp. 189. DOI 10.3390/antibiotics10020189.
- WILSON, CB, JACOBS, RF et SMITH, AL, 1982. Cellular antibiotic pharmacology. *Seminars in perinatology* [en ligne]. avril 1982. Vol. 6, n° 2. [Consulté le 6 août 2024]. Disponible à l'adresse : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7048540/>
- WILSON, D. J., GONZALEZ, R. N. et DAS, H. H., 1997. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production. *Journal of Dairy Science*. octobre 1997. Vol. 80, n° 10, pp. 2592-2598. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(97)76215-5.
- WILSON, David J., GONZALEZ, Ruben N., CASE, Kerry L., GARRISON, Linda L. et GROÖHN, Yrjö T., 1999. Comparison of Seven Antibiotic Treatments with No Treatment for Bacteriological Efficacy Against Bovine Mastitis Pathogens. *Journal of Dairy Science*. 1 août 1999. Vol. 82, n° 8, pp. 1664-1670. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(99)75395-6.
- WYDER, A. B., BOSS, R., NASKOVA, J., KAUFMANN, T., STEINER, A. et GRABER, H. U., 2011. *Streptococcus* spp. and related bacteria: their identification and their pathogenic potential for chronic mastitis - a molecular approach. *Research in Veterinary Science*. décembre 2011. Vol. 91, n° 3, pp. 349-357. DOI 10.1016/j.rvsc.2010.09.006.
- WYNN, Thomas A. et RAMALINGAM, Thirumalai R., 2012. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nature Medicine*. 6 juillet 2012. Vol. 18, n° 7, pp. 1028-1040. DOI 10.1038/nm.2807.

XIAO, Jianxin, KHAN, Muhammad Zahoor, MA, Yulin, ALUGONGO, Gibson Maswayi, MA, Jiaying, CHEN, Tianyu, KHAN, Adnan et CAO, Zhijun, 2021. The Antioxidant Properties of Selenium and Vitamin E; Their Role in Periparturient Dairy Cattle Health Regulation. . 2021.

ZADOKS, R N, ALLORE, H G, BARKEMA, H W, SAMPIMON, O C, GRÖHN, Y T et SCHUKKEN, Y H, 2001. Analysis of an Outbreak of *Streptococcus uberis* Mastitis. . 2001. Vol. 84, n° 3.

ZADOKS, R. N., GILLESPIE, B. E., BARKEMA, H. W., SAMPIMON, O. C., OLIVER, S. P. et SCHUKKEN, Y. H., 2003. Clinical, epidemiological and molecular characteristics of *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. *Epidemiology and Infection*. avril 2003. Vol. 130, n° 2, pp. 335-349. DOI 10.1017/s0950268802008221.

ZADOKS, Rn, SCHOLZ, E, ROWE, Sm, NORRIS, Jm, POOLEY, Hb et HOUSE, J, 2023. A framework for evaluation of on-farm mastitis diagnostics in Australia. *Australian Veterinary Journal*. 2023. Vol. 101, n° 4, pp. 142-152. DOI 10.1111/avj.13228.

ZADOKS, Ruth N., TIKOFSKY, Linda L. et BOOR, Kathryn J., 2005. Ribotyping of *Streptococcus uberis* from a dairy's environment, bovine feces and milk. *Veterinary Microbiology*. 30 août 2005. Vol. 109, n° 3-4, pp. 257-265. DOI 10.1016/j.vetmic.2005.05.008.

ZHANG, Hang, YANG, Feng, LI, Xin-pu, LUO, Jin-yin, WANG, Ling, ZHOU, Yu-long, YAN, Yong, WANG, Xu-rong et LI, Hong-sheng, 2020. Detection of antimicrobial resistance and virulence-related genes in *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis* isolated from clinical bovine mastitis cases in northwestern China. *Journal of Integrative Agriculture*. 1 novembre 2020. Vol. 19, n° 11, pp. 2784-2791. DOI 10.1016/S2095-3119(20)63185-9.

ZIESCH, Marco et KRÖMKER, Volker, 2016. Factors influencing bacteriological cure after antibiotic therapy of clinical mastitis. *Milk Science International - Milchwissenschaft*. 19 février 2016. Vol. 69, n° 2, pp. 7-14. 2016

ZIV, G., 1980a. Drug selection and use in mastitis: systemic vs local therapy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1980. Vol. 176, n° 10 Spec No, pp. 1109-1115.

ZIV, G., 1980b. Practical pharmacokinetic aspects of mastitis therapy - 3: intramammary treatment. *Veterinary medicine, small animal clinician: VM, SAC*. avril 1980. Vol. 75, n° 4, pp. 657-670.

ZIV, G. et STORPER, M., 1985. Intramuscular treatment of subclinical staphylococcal mastitis in lactating cows with penicillin G, methicillin and their esters. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. septembre 1985. Vol. 8, n° 3, pp. 276-283. DOI 10.1111/j.1365-2885.1985.tb00957.x.

ZOUHAROVA, M, NEDBALCOVA, K, SLAMA, P, BZDIL, J, MASARIKOVA, M et MATIASOVIC, J, 2022. Occurrence of virulence-associated genes in *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis* isolated from bovine mastitis. *Veterinárni medicína*. 15 mars 2022. Vol. 67, n° 3, pp. 123-130. DOI 10.17221/95/2021-VETMED.

## ANNEXES

Annexe 1 : Tableau partagé de recueil des données brutes (lignes d'exemple), 2024.

Identification étude	Protocole	Identification vache	Identification éleveur	Grade
REM_MC_01A	A	2750	GAEC DE XXX	0 ▾
SF_MC_02B	B	Noisette	EARL DE XXX	1 ▾
TL_MC_03	A	5194	GAEC DE XXX	2 ▾

Quartier atteint	Rang lactation	Stade lactation	Date début trt	CMI e-test (mg/L)
Arrière droit ▾	>= 3 ▾	5 ▾	03/06/2023	0,125
Avant gauche ▾	2 ▾	3 ▾	17/06/2023	0,023
Arrière droit ▾	1 ▾	7 ▾	06/07/2023	0,016

Résultat MTT	CMI MTT (mg/L)	Date(s) épisode(s) clinique(s) antérieur(s)	Date CCI n-2	CCI n-2
Autre ... ▾	<= 0,5		21/04/2023	281 000
Strept... ▾	<= 0,05	15/05 et 10/06	21/04/2023	1 084 000
Strept... ▾	<= 0,1		02/06/2023	1 389 000

Date CCI n-1	CCI n-1	Date CCI n+1	CCI n+1	Date CCI n+2	CCI n+2
23/05/2023	3 274 000	26/06/2023	88 000	27/07/2023	154 000
23/05/2023	843 000	26/06/2023	240 000	27/07/2023	66 000
12/07/2023	2 607 000	18/09/2023	400 000	20/10/2023	675 000

Date bactério J19	Bactério J19	Date bactério J26	Bactério J26
22/06/2023	négati... ▾	30/06/2023	négati... ▾
19/07/2023	négati... ▾	30/06/2023	négati... ▾
22/07/2024	négati... ▾	30/06/2023	positiv... ▾





TRAITEMENT DES MAMMITES BOVINES A *STREPTOCOCCUS UBERIS* :  
COMPARAISON DE DEUX PROTOCOLES THERAPEUTIQUES LORS DE CAS  
CHRONIQUES NON SEVERES EN LACTATION

Nom, Prénom : Dupont, Léonore

Résumé : Les mammites représentent une dominante pathologique majeure associée à une utilisation élevée d'antibiotiques en élevage bovin laitier. Dans le cadre d'une utilisation raisonnée des antibiotiques, les protocoles thérapeutiques applicables méritent d'être évalués. L'objectif de ce travail est de comparer deux protocoles thérapeutiques dans le cas des mammites chroniques à *Streptococcus uberis* chez la vache en lactation : un protocole basé sur l'administration de pénicilline par voie intra-mammaire uniquement, et un protocole combinant alternativement pénicilline par voie intra-mammaire et pénéthamate par voie intra-musculaire. Pour cela, un essai comparatif a été réalisé dans des élevages laitiers de trois clientèles vétérinaires françaises avec des contrôles bactériologiques et des mesures de CMI. Après une synthèse bibliographique sur les mammites bovines, leur impact en France et dans le monde, avec une attention particulière portée à *Streptococcus uberis*, ce manuscrit présente les premiers résultats obtenus au cours de l'essai thérapeutique réalisé. Il apparaît que le protocole combiné confère une efficacité supérieure en termes de guérison bactériologique. Cependant, des nuances sont apportées suggérant l'intérêt de développer des alternatives efficaces aux antibiotiques dans les années à venir.

Mots clés : mammite chronique, *Streptococcus uberis*, vache laitière, pénéthamate, pénicilline, antibiotiques, intra-mammaire, thérapeutique, Mastatest, CMI

TREATMENT OF *STREPTOCOCCUS UBERIS* BOVINE MASTITIS : COMPARISON OF  
TWO THERAPEUTIC PROTOCOLS ON CHRONIC NON-SEVERE CASES DURING  
LACTATION

Abstract : Bovine mastitis in dairy herds are a major disease associated with a significant use of antibiotics. In the context of a reasonable use of antimicrobials, the relevant therapeutic protocols deserve to be assessed. The aim of this work is to compare two treatments of chronic *Streptococcus uberis* mastitis during lactation : the first protocol consists of penicillin intramammary injections only, while the second one also adds alternate intramuscular penethamate injections. To this end, a comparative experiment has been conducted in dairy herds, with bacteriological control and MIC measurements. Three French veterinary clinics participate in this experiment. After a bibliographic study that provides an overview of bovine mastitis and their impact in France and around the world, with a specific focus on *Streptococcus uberis*, this thesis presents the first field results of the experimental study. It appears that the combined protocol has a considerably better efficiency regarding bacteriological cure. Nevertheless, some nuances are to be made that suggest the interest of developing effective alternatives to antibiotics in the years to come.

Key words : chronic mastitis, *Streptococcus uberis*, dairy cow, penethamate, penicillin, antibiotics, intramammary, therapeutics, Mastatest, MIC