



HAL
open science

Effet d'un traitement anti-inflammatoire sur la fertilité lors de mammite chez la vache - Etude bibliographique

Nicolas Nehlig

► To cite this version:

Nicolas Nehlig. Effet d'un traitement anti-inflammatoire sur la fertilité lors de mammite chez la vache - Etude bibliographique. Médecine vétérinaire et santé animale. 2018. dumas-04882054

HAL Id: dumas-04882054

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04882054v1>

Submitted on 13 Jan 2025

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.

Copyright

Année 2018

**EFFET D'UN TRAITEMENT ANTI-INFLAMMATOIRE
SUR LA FERTILITÉ LORS DE MAMMITE
CHEZ LA VACHE
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le 4 janvier 2018

par

Nicolas NEHLIG

JURY

Président : Pr. HERNIGOU
Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Dr. BELBIS Guillaume
Maître de conférences à l'ENVA
Assesseur : Dr. MAUFFRE Vincent
Maître de conférences à l'ENVA

Liste des membres du corps enseignant

Directeur, par intérim : M. le Professeur Degueurce Christophe

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : Cotard Jean-Pierre, Mialot Jean-Paul, Moraillon Robert, Parodi André-Laurent, Pilet Charles, Toma Bernard.

Professeurs émérites : Mme et MM. : Bénét Jean-Jacques, Chermette René, Combrisson Hélène, Courreau Jean-François, Deputte Bertrand, Niebauer Gert, Paragon Bernard, Pouchelon Jean-Louis.

Département d'élevage et de pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique de cardiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Chetboul Valérie* - Dr Gkouni Vassiliki, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique de clinique équine</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Audigé Fabrice - Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences - Dr Bourzac Céline, Maître de conférences contractuelle - Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier * - Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier - Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier - Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier <p>Unité pédagogique de médecine interne</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Benchekroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane Maître de conférence contractuel - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier - Dr Maurey-Guéneq Christelle, Maître de conférences <p>Discipline : imagerie médicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Stambouli Fouzia, Praticien hospitalier 	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cléro Delphine, Maître de conférences - Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences - Pr Grandjean Dominique* - Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier - Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Fayolle Pascal - Dr Mailhac Jean-Marie, Maître de conférences - Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences - Pr Moissonnier Pierre - Pr Viateau-Duval Véronique* <p>Discipline : anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Zilberstein Luca, Maître de conférences <p>Discipline : ophtalmologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier
--	---

Département des Productions Animales et de la Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Augustin Jean-Christophe - Dr Bolnot François, Maître de conférences * - Pr Cartier Vincent <p>Unité pédagogique de maladies règlementées, zoonoses et épidémiologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Dufour Barbara* - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Praud Anne, Maître de conférences - Dr Rivière Julie, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Adjou Karim* - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences - Pr Millemann Yves - Dr Ravary-Plumioën Bérange, Maître de conférences - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier 	<p>Unité pédagogique de reproduction animale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr El Bay Sarah, Praticien hospitalier - Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Pr Bossé Philippe* - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences - Pr Grimard-Ballif Bénédict - Dr Leroy-Barassin Isabelle, Maître de conférences - Pr Ponter Andrew - Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier
--	--

Département des sciences biologiques et pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Chateau Henry - Adjoint : Dr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Degueurce Christophe - Pr Robert Céline* <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Boulouis Henri-Jean* - Pr Eloit Marc - Dr Le Poder Sophie, Maître de conférences - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences - Pr Quintin-Colonna Françoise <p>Unité pédagogique de biochimie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Bellier Sylvain* - Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier - Dr Michaux Jean-Michel, Maître de conférences <p>Discipline : éducation physique et sportive</p> <ul style="list-style-type: none"> - M. Philips Pascal, Professeur certifié <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques* - Dr Laloy Eve, Maître de conférences - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences 	<p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Dr Desquilbet Loïc, Maître de conférences (Biostatistique, Epidémiologie) * - Dr Fournel Christelle, Maître de conférences contractuelle (Gestion et management) <p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattachée au DEPEC) - Dr Darmon Céline, Maître de conférences contractuelle (rattachée au DEPEC) - Pr Guillot Jacques* - Dr Polack Bruno, Maître de conférences - Dr Risco-Castillo Verónica, Maître de conférences <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pr Enriquez Brigitte, - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences * - Pr Tissier Renaud <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Dr Gilbert Caroline, Maître de conférences (Ethologie) - Pr Panthier Jean-Jacques (Génétique) - Dr Pilot-Storck Fanny, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent, (Physiologie, Pharmacologie) *
--	--

* responsable d'unité pédagogique

REMERCIEMENTS

Au Professeur de la faculté de Médecine de Créteil,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Monsieur Guillaume Belbis, Maître de Conférences,

Qui a accepté de diriger ce travail et de le corriger.

Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A Monsieur Vincent Mauffré, Maître de Conférences,

Pour l'attention particulière qu'il a portée à la relecture de ce travail,

Qu'il trouve ici l'expression de nos sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	7
1. Mammites bovines – généralités et physiopathologie	9
1.1. Définitions.....	9
1.1.1. Mammites subcliniques	9
1.1.2. Mammites cliniques.....	9
1.2. Défenses de la mamelle.....	11
1.2.1. Défenses basses de la mamelle – défenses « physiques »	11
1.2.2. Défenses « hautes » de la mamelle : l’immunité innée.....	12
1.3. Agents de mammites.....	15
1.3.1. Les agents pathogènes majeurs.....	15
1.3.2. Les agents mineurs de mammites	18
1.4. Physiopathologie de l’infection mammaire.....	20
1.4.1. Effet de l’infection de la glande mammaire par <i>E. coli</i>	20
1.4.2. Différence de profil des réponses inflammatoires selon le type de bactérie Gram négatif infectant la mamelle	21
1.4.3. Effet de l’infection par <i>S. aureus</i>	23
1.4.4. Effet de l’infection par <i>S. uberis</i>	25
1.4.5. Effet de l’infection par d’autres pathogènes mammaires	25
1.4.6. Contexte particulier du péripartum favorisant la persistance de l’inflammation.....	25
1.4.7. Douleur engendrée par les mammites	26
1.5. Traitement anti-inflammatoire lors de mammite bovine	29
1.5.1. Qu’est-ce qu’un anti-inflammatoire ?	29
1.5.2. Effet d’un traitement AINS lors de mammites cliniques induites expérimentalement	32
1.5.3. Effet d’un traitement AINS lors de mammite clinique survenant naturellement.....	33
1.5.4. Effet d’un traitement glucocorticoïde lors de mammite clinique	35
2. Généralités sur la reproduction de la vache laitière	37
2.1. Physiologie de la reproduction	37
2.1.1. Le cycle œstral de la vache	37
2.1.2. Cas de la physiologie de la reproduction en post-partum chez la vache laitière	41
2.1.3. La fécondation et la vie libre de l’embryon	42
2.1.4. L’implantation.....	42
2.1.5. La gestation.....	43
2.2. Les paramètres de reproduction évaluables chez la vache.....	43

2.2.1.	Les principaux indices économiques.....	43
2.2.2.	Les indices d'interprétation	45
2.3.	Détérioration des paramètres de reproduction de la vache laitière depuis plusieurs décennies.....	48
3.	Influence des mammites sur la fertilité de la vache laitière et effet d'un traitement AINS lors de mammite sur la fertilité.....	50
3.1.	Impact des mammites sur la fertilité – données épidémiologiques	50
3.1.1.	Effets des mammites cliniques sur la fertilité.....	50
3.1.2.	Effets des mammites subcliniques sur la fertilité	54
3.1.3.	Importance du moment de la survenue de la mammite par rapport à l'insémination	56
3.1.4.	Les mammites influencent-elles la fertilité à l'échelle d'un élevage ?	56
3.2.	Mécanismes expliquant l'impact des mammites sur la fertilité des vaches	58
3.2.1.	Influence des mammites sur l'axe hypothalamo-hypophysaire ovarien.....	58
3.2.2.	Influence des mammites sur la fonction ovarienne	61
3.2.3.	Influence des mammites sur la fonction utérine.....	63
3.2.4.	Influence des mammites sur l'embryon	63
3.2.5.	Corrélation génétique entre mammite et fertilité.....	64
3.2.6.	Influence des mammites sur les affections métaboliques ?.....	64
3.2.7.	Synthèse.....	67
3.3.	Etude des effets d'un traitement anti-inflammatoire sur la fertilité des vaches	68
	BIBLIOGRAPHIE	75

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie du trayon chez la vache (Barone, 2001)	10
Figure 2 : Structure du LPS et positionnement dans la membrane bactérienne	16
Figure 3 : Profil cytokinique après infection expérimentale avec trois espèces différentes de bactéries Gram négatif.....	22
Figure 4 : Effet de l'administration de LPS ou d'acide lipotéichoïque par voie intramammaire sur les concentrations en cellules somatiques du lait, l'expression de la LDH et du TNF α	24
Figure 5 : Consommation alimentaire quotidienne chez des vaches à mammites et chez des vaches saines nourries à volonté (d'après Fogsgaard <i>et al.</i> , 2015). Les vaches atteintes de mammites recevaient un traitement antibiotique à J ₀ , J ₁ et J ₂	28
Figure 6 : Fréquence moyenne des coups de pieds portés par les vaches durant la traite dans un robot de traite par les vaches atteintes de mammite clinique ou par des vaches saines (d'après Fogsgaard <i>et al.</i> , 2015).	28
Figure 7 : Température rectale moyenne observée chez différents groupes d'animaux présentant une mammite induite expérimentalement (d'après Banting <i>et al.</i> , 2008).....	33
Figure 8 : Concentration moyenne (avec écart type) en thromboxane B2 dans le lait chez des animaux non traité (groupe 1) ou recevant un traitement à base de kétoprofène (groupes 2 et 3) à différents intervalles après challenge intramammaire avec l'endotoxine de <i>E. coli</i> (d'après Banting <i>et al.</i> , 2008).....	34
Figure 9 : Concentration moyenne (avec écart type) en thromboxane B2 dans le plasma chez des animaux non traité (groupe 1) ou recevant un traitement à base de kétoprofène (groupes 2 et 3) à différents intervalles après challenge intramammaire avec l'endotoxine de <i>E. coli</i> (d'après Banting <i>et al.</i> , 2008).....	34
Figure 10 : Pourcentage cumulé des vaches atteintes de mammite cliniques, traitées avec du pénéthamate et du méloxicam (groupe traité) ou l'excipient (groupe témoin), réformées durant les 45 semaines suivant l'inclusion dans l'étude (d'après McDougall <i>et al.</i> , 2009)	36
Figure 11 : Croissance folliculaire par vague au cours du cycle œstral chez la vache (J ₀ = jour d'ovulation) (d'après (Ennuyer, 2000))	39
Figure 12 : Probabilité de gestation en première insémination, pour une vache en seconde lactation, élevée au printemps avec ou sans mammite clinique, selon le germe impliqué lors de la mammite clinique (d'après Hertl <i>et al.</i> , 2010)	52
Figure 13 : Evolution du pourcentage de vaches non gravides en fonction de l'augmentation du nombre de jours en lait (d'après (Wilson <i>et al.</i> , 2008)).	53
Figure 14 : Probabilité de gestation en première insémination, pour une vache en seconde lactation, élevée à l'automne, sans mammite clinique ou avec une mammite due à différents pathogènes (d'après (Hertl <i>et al.</i> , 2014))	55
Figure 15 : Effet prévisible d'une augmentation équivalente de chaque différents sur la fertilité globale (d'après (Hudson <i>et al.</i> , 2015)	57
Figure 16 : Profil de croissance des follicules durant les dernières étapes de la synchronisation des chaleurs et des follicules de la première vague folliculaire (J ₂ à J ₈) (d'après (Lavon <i>et al.</i> , 2011b))	59

Figure 17 : Concentrations moyennes en œstradiol plasmatique durant la phase folliculaire, de la première injection de PGF2 α au 6 ^{ème} jour du cycle jusqu'à la collecte des follicules 48 heures après. (d'après (Lavon <i>et al.</i> , 2011b)).....	59
Figure 18 : Evolution de la consommation volontaire en matière sèche (en kg MS/jour) et des besoins énergétiques en fonction du temps chez la vache laitière	66
Figure 19 : Incidence des mammites en fonction du mois de lactation (d'après (Green <i>et al.</i> , 2002))	67
Figure 20 : Schéma de synthèse (d'après Chastant-Maillard, 2016).....	67
Figure 21 : Répartition des intervalles entre la première et la seconde insémination artificielle en fonction du groupe (lot traité au méloxicom en haut de la figure ; lot témoin en bas de la figure) (McDougall <i>et al.</i> , 2016)	69
Figure 22 : Probabilité cumulée de non gestation pour des vaches atteintes de mammites cliniques de grade 1 ou 2 traitées par antibiothérapie intramammaire et traitées ou non avec du méloxicom (d'après (McDougall <i>et al.</i> , 2016))	70
Figure 23 : Probabilité cumulée de sortie du troupeau pour des vaches atteintes de mammites cliniques de grade 1 ou 2 traitées par antibiothérapie intramammaire et traitées ou non avec du méloxicom (d'après (McDougall <i>et al.</i> , 2016)).....	71

Liste des tableaux

Tableau 1 : Echelle de sévérité des mammites (d'après Durel <i>et al.</i> , 2011)	11
Tableau 2 : Concentrations en immunoglobulines (exprimées en mg/100 mL) dans le sang, le colostrum et le lait (Andrews <i>et al.</i> , 2008).....	14
Tableau 3 : Principaux AINS disponibles en thérapeutique chez les animaux de rente.....	30
Tableau 4 : Objectifs pour la reproduction des vaches laitières (d'après Seegers et Malher, 1996).....	47
Tableau 5 : Objectifs pour la reproduction des vaches laitières (d'après (Hanzen, 2009).....	48
Tableau 6 : Détérioration de différents paramètres de la reproduction au cours des dernières décennies chez la vache laitière	49
Tableau 7 : Facteurs individuels et collectifs responsables de détérioration de la reproduction (d'après Hanzen, 2015b)	49
Tableau 8 : Impact d'un traitement anti-inflammatoire à base de méloxicam lors de mammites de faible grade sur les principaux indicateurs de la reproduction (McDougall <i>et al.</i> , 2016)	70
Tableau 9 : Résultats économiques (facteurs de coûts, flux de trésorerie et bénéfice économique net) pour un cas moyen de mammite clinique avec ou sans traitement complémentaire avec le méloxicam (les 5 ^{ème} et 95 ^{ème} centiles sont présentés entre parenthèses). D'après (van Soest <i>et al.</i> , 2016).....	72

INTRODUCTION

L'économie des élevages de vaches laitières dépend grandement de la reproduction des femelles, et tout particulièrement de la fécondité et de la fertilité du troupeau. La reproduction permet en effet d'assurer la production laitière mais permet également d'assurer la pérennité de l'élevage en permettant le renouvellement des animaux producteurs et d'assurer une longévité des vaches, source de rentabilité de l'atelier laitier. Durant plusieurs décennies, les performances de reproduction des vaches laitières ont subi une forte dégradation. Les causes de cette détérioration sont multifactorielles, et impliquent des causes génétiques, nutritionnelles, métaboliques ou encore infectieuses.

Les mammites représentent l'affection la plus fréquente chez la vache laitière. Leur impact clinique et économique est bien connu. L'importance des théories actuelles sur le lien entre inflammation et reproduction chez la vache laitière a conduit au cours des dernières décennies à suspecter et étudier le lien entre mammites et fertilité. Si des preuves d'un lien entre ces deux entités ont été mises en évidence dans plusieurs travaux, l'effet d'un traitement de l'inflammation secondaire à une infection intramammaire sur la fertilité n'a fait l'objet que de très peu de travaux. L'intérêt d'une réévaluation des pratiques thérapeutiques avec une meilleure prise en charge de l'inflammation mérite d'être étudié, les anti-inflammatoires ne faisant pas partie de l'arsenal thérapeutique de toute mammite à l'heure actuelle.

Ce manuscrit s'articulera en trois parties. Dans un premier temps, ce travail abordera des données sur les mammites bovines en focalisant sur les conséquences inflammatoires de ces infections de la glande mammaire et sur les effets des traitements anti-inflammatoires en thérapeutique. Une seconde partie traitera de la physiologie de la reproduction bovine et des paramètres permettant d'en évaluer son efficacité. Enfin un dernier axe fera une synthèse bibliographique du lien entre mammites et fertilité, ainsi que le résultat d'une étude présentant les effets sur la fertilité de l'adjonction d'un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), le méloxicam, complément du traitement antibiotique lors de mammites bovine.

1. Mammmites bovines – généralités et physiopathologie

1.1. Définitions

Une mammite se définit comme une inflammation de la mamelle. Chez la vache, cette inflammation est secondaire à une infection mammaire par des agents bactériens (et de manière plus rare par des levures, des algues unicellulaires ou des virus). L'infection est dans la majeure partie des cas secondaire à une inoculation par voie diathélique, c'est-à-dire par le canal du trayon.

Comme tout phénomène infectieux, une mammite fait intervenir trois acteurs : la bactérie, l'hôte (et plus précisément ses mécanismes de défense) et l'environnement. L'impact d'une infection mammaire varie selon les germes et l'hôte, conduisant à différentes entités cliniques : les mammites cliniques et les mammites subcliniques.

1.1.1. Mammites subcliniques

Par opposition aux mammites cliniques, les mammites subcliniques se caractérisent par l'absence de répercussion clinique de l'inflammation mammaire. L'inflammation mammaire se caractérise par une augmentation de la concentration en leucocytes ou cellules somatiques (les neutrophiles notamment qui augmentent lors d'infection mammaire, cf. infra) au-dessus d'un seuil. En France, une vache est considérée comme saine (c'est-à-dire ne présentant pas de mammite) lorsque la concentration en cellules somatiques individuelles (CCSI) du lait composite (mélange issu des quatre quartiers) est inférieure à 300 000 cellules/ml (Roussel *et al.*, 2011). Il est également généralement admis en France que lorsqu'une vache présente une CCSI supérieure à 800 000 cellules/mL, la vache est infectée. Entre 300 000 cellules/mL et 800 000 cellules/mL, la vache est considérée comme douteuse (Sérieys, 1985).

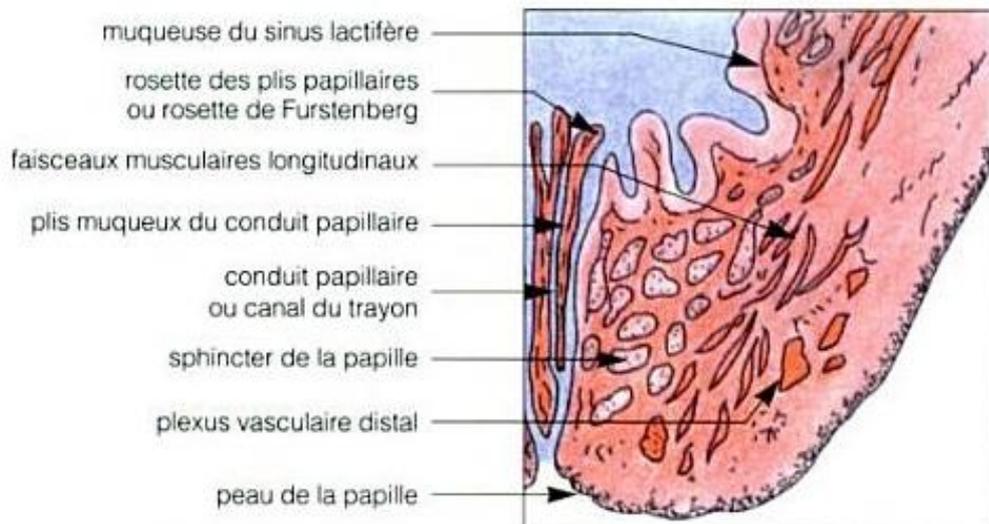
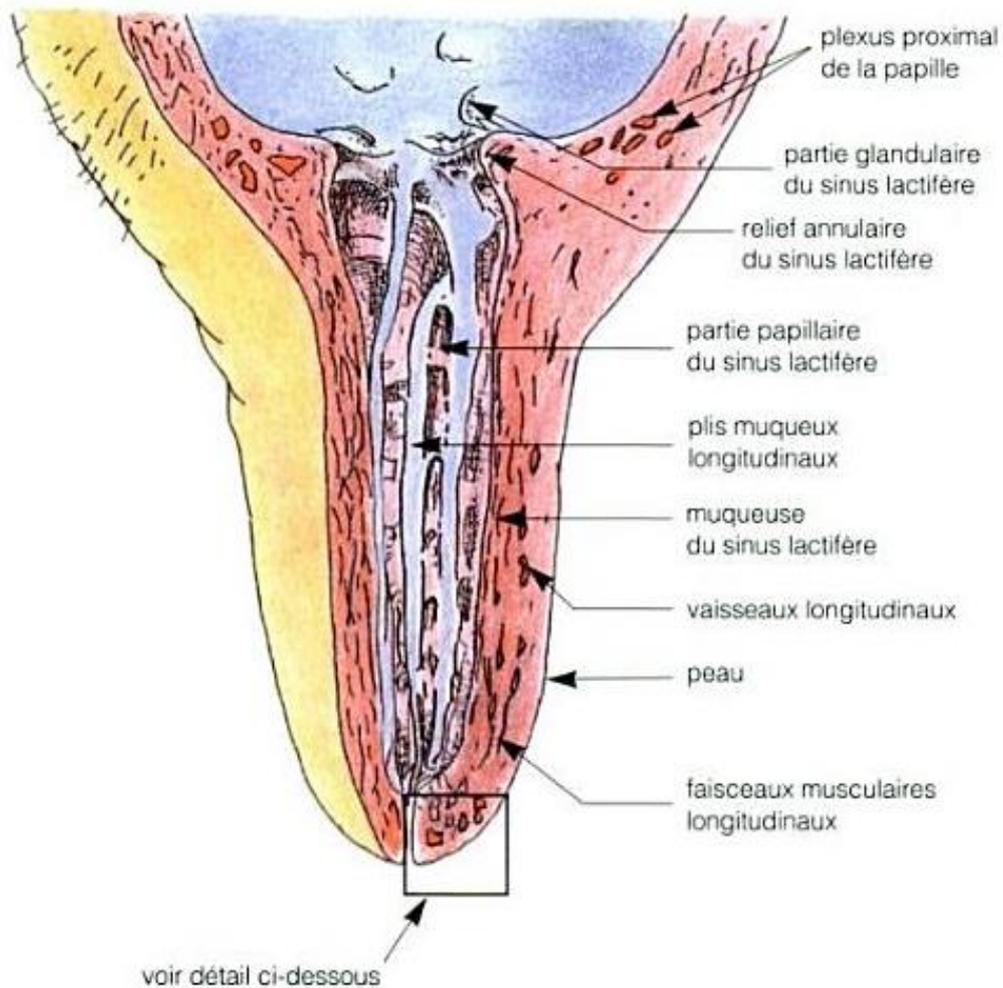
Les seuils permettant de définir l'existence d'une infection subclinique varient selon les pays. Aux Etats-Unis, le National Mastitis Council (NMC) propose de définir une vache saine à l'aide d'un seuil de 250 000 cellules/mL : un animal en dessous de 250 000 cellules/mL a une probabilité élevée de ne pas être infecté, au contraire d'un animal au-dessus de 300 000 cellules par millilitre. Pour les primipares, le seuil proposé est de 150 000 cellules/mL (NMC, 1997).

Cette définition permet de définir les animaux infectés de manière subclinique. Il est également possible de détecter les quartiers infectés à l'aide de tests mettant en évidence l'élévation de la concentration en cellules à l'échelle du quartier. Les principaux tests employés sur le terrain incluent l'estimation semi-quantitative de la concentration en cellules somatiques à l'aide du test CMT (*Californian Mastitis Test*), la mesure de cette concentration de manière plus précise à l'aide d'un compteur cellulaire portatif (compteur DCC® DeLaval) ou encore à l'aide de conductimètres portatifs (Jacquinet, 2009).

1.1.2. Mammites cliniques

Une mammite clinique se définit comme une infection de la glande mammaire associée à l'apparition de signes cliniques (secondaires à l'inflammation mammaire) objectivables. Selon l'intensité de la réponse inflammatoire, les signes cliniques peuvent être rencontrés à différents étages

Figure 1 : Anatomie du trayon chez la vache (Barone, 2001)



(aspect des sécrétions lactées ; atteinte de la mamelle voire atteinte de l'état général), conduisant à définir des grades de mammites (Tableau 1).

On parlera de mammite clinique *a minima* lorsqu'une modification de l'aspect de la sécrétion lactée est observée. Une mammite clinique de grade 1 est caractérisée par une modification de l'aspect du lait seule. Lors de signes cliniques d'inflammation du quartier (chaleur, douleur, gonflement) associés à l'altération du lait mais sans atteinte de l'état général de l'animal, un grade 2 sera attribué à la mammite clinique. Enfin une mammite clinique de grade 3 correspondra à une mammite avec modification du lait, inflammation du quartier et atteinte de l'état général. (Durel *et al.*, 2011).

Tableau 1 : Echelle de sévérité des mammites (d'après Durel *et al.*, 2011)

Symptômes	Mammite subclinique	Mammite clinique		
		Grade 1, légère	Grade 2, modérée	Grade 3, sévère
Elévation des CCSI	+	+	+	+
Altération du lait	-	+	+	+
Quartier enflammé	-	-	+	+
Etat général altéré	-	-	-	+

On qualifie de mammite aiguë toute mammite d'apparition rapide, sans antécédents, par opposition à mammite chronique lorsqu'une infection est présente dans la mamelle depuis plus de 15 jours avant l'apparition des symptômes. (Durel *et al.*, 2011).

Comme nous l'aborderons par la suite, les différents agents pathogènes mammaires sont de manière plus ou moins marquée associés avec un type d'atteinte mammaire : certaines bactéries conduisent plus fréquemment à des mammites de grade élevé alors que d'autres au contraire conduisent préférentiellement à une mammite subclinique.

1.2. Défenses de la mamelle

1.2.1. Défenses basses de la mamelle – défenses « physiques »

Le canal du trayon représente la première ligne de défense contre les mammites bovines, la contamination de la mamelle se faisant quasi exclusivement par voie diathélique (à l'exception notable de *Mycoplasma bovis*). Le tout premier niveau de défense de la mamelle est représenté par le sphincter du canal du trayon : le bout du trayon contient des fibres musculaires permettant la fermeture du canal du trayon entre les traites. Après la traite, un délai de deux heures est nécessaire pour permettre la contraction du sphincter conduisant à la fermeture du canal du trayon (Schultze et Bright, 1983) (Figure 1).

Ce canal est « scellé » entre les traîtes et durant la période sèche par un bouchon de kératine dérivé de l'épithélium stratifié tapissant le canal. Ce bouchon, collant, joue un rôle de barrière physique permettant de prévenir la pénétration des bactéries qui s'engluent dans cette couche. La kératine présente ainsi la capacité à fixer, à immobiliser la plupart des bactéries non-encapsulées associées aux mammites (Craven, 1985).

Enfin la peau du trayon joue également un rôle dans la défense de la mamelle. La peau du trayon, glabre et lisse, limite l'adhésion des bactéries et la colonisation bactérienne. La présence de lésions sur la peau du trayon (gerçures notamment) favorise la survie des bactéries sur la peau, au premier rang duquel figure *Staphylococcus aureus* (Rainard et Riollet, 2006).

1.2.2. Défenses « hautes » de la mamelle : l'immunité innée

1.2.2.1. Défenses cellulaires

L'immunité innée de la mamelle joue un rôle clé dans les mécanismes de défense de la mamelle. Son étude permet de mieux appréhender les effets d'une infection mammaire sur l'immunité et l'inflammation de l'hôte. Les défenses de la mamelle impliquent notamment des lignes de défense cellulaire et humorale.

1.2.2.1.1. Les cellules impliquées dans la réponse immune innée

L'immunité innée de la mamelle inclue des cellules, notamment les granulocytes neutrophiles, les macrophages, les cellules Natural Killer (NK) et les cellules dendritiques.

Les macrophages constituent le type majoritaire de cellules dans le lait, dans les sécrétions de la mamelle sèche et dans le tissu mammaire (Jensen et Eberhart, 1981; Mehrzad *et al.*, 2002; Sordillo *et al.*, 1987). Les macrophages mammaires présentent des capacités de phagocytose de la plupart des agents pathogènes associés aux mammites ; cependant, comme pour les polynucléaires neutrophiles, leur capacité de phagocytose apparaît être inférieure à celle des macrophages sanguins (Mullan *et al.*, 1985). Ces macrophages mammaires jouent probablement un rôle défensif direct même si cette fonction est remise en question par certains auteurs (Rainard et Riollet, 2006). Leur rôle de cellules présentatrices d'antigènes, faisant d'eux des cellules pivots dans la détection des agents pathogènes et dans l'initiation de la réponse inflammatoire, paraissent être le principal rôle défensif des macrophages dans la défense de la glande mammaire.

La contribution des polynucléaires neutrophiles présents dans le lait non infecté n'est pas totalement éclaircie. En effet leur concentration dans le lait non infecté est trop faible pour permettre une activité phagocytaire efficace. De plus, la plupart de ces neutrophiles sont non viables ou en voie d'apoptose (Rainard et Riollet, 2006). Néanmoins la présence de neutrophiles dans le lait est associée à une réduction du risque d'infection intramammaire, et la viabilité des neutrophiles avant infection permet de limiter la sévérité des mammites à Gram négatif (Burton et Erskine, 2003; Mehrzad *et al.*, 2004). Il est actuellement considéré que la concentration basale en neutrophiles dans le lait non infecté est reliée à la capacité de la glande mammaire à réagir à une infection intramammaire. Les mécanismes associés à cette constatation ne sont actuellement pas élucidés.

Les cellules NK sont des lymphocytes granuleux de grande taille exerçant leur activité cytotoxique indépendamment du CMH, par l'intermédiaire d'un mécanisme de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendant des anticorps. Au niveau de la mamelle, les cellules NK joueraient un

rôle dans l'élimination des pathogènes extracellulaires (Rainard et Riollet, 2006). Les cellules NK bovines, stimulées par de l'interleukine 2 (IL-2) coderaient pour des protéines de la famille de la saposine qui permettraient une activité bactéricide vis-à-vis de *S. aureus* (Sordillo *et al.*, 2005).

Enfin, en marge des cellules évoquées précédemment présentes dans les sécrétions mammaires, d'autres cellules infiltrant le tissu mammaire interviennent dans les défenses cellulaires de la glande mammaire. Des lymphocytes T CD4+ et CD8+, des lymphocytes B ainsi que des cellules dendritiques sont retrouvés en petite quantité dans le tissu alvéolaire et dans les alvéoles (Leitner *et al.*, 2000; Tatarczuch *et al.*, 2000). Les lymphocytes se retrouvent également en quantité plus importante au niveau de la double couche épithéliale tapissant la citerne du trayon, ainsi que quelques monocytes/macrophages. Enfin les leucocytes sont retrouvés en quantité marquée dans le tissu à la jonction entre la citerne du trayon et sa jonction avec le canal du trayon, une structure nommée rosette de Fürstenberg (Nickerson et Pankey, 1983).

1.2.2.1.2. Les récepteurs impliqués dans la réponse immune innée

Une fois que la bactérie a pénétré dans la glande mammaire, le contact de celle-ci avec les cellules somatiques du lait et les cellules de l'épithélium mammaire conduit à l'induction de la réponse immune innée et à l'activation de la transcription de gènes intervenant dans la réponse inflammatoire. La réponse immune innée est caractérisée par une activation rapide des mécanismes de défense antimicrobienne de l'hôte suite à l'infection de la glande mammaire.

Une réponse rapide et efficace de la réponse immune innée nécessite une reconnaissance précoce des pathogènes potentiels. Bien que non spécifique par nature, l'immunité innée est initiée lorsque des récepteurs capables de reconnaître des motifs (PRR pour « pattern recognition receptors »), présents à la surface ou à l'intérieur des cellules de l'hôte, reconnaissent des motifs étrangers spécifiques, nommés en anglais PAMP pour « pathogen-associated molecular patterns ». Ces molécules sont des motifs conservés partagés par des groupes de différents pathogènes (Shuster *et al.*, 1996).

Les récepteurs reconnaissant ces motifs sont exprimés à la surface des leucocytes du lait et à la surface des cellules épithéliales tapissant la glande mammaire (Goldammer *et al.*, 2004; Strandberg *et al.*, 2005). Parmi ces récepteurs, les « toll-like receptors » ou TLR forment le groupe le mieux connu, avec 13 types de ces récepteurs identifiés chez l'animal, parmi lesquels 10 sont connus pour être présents chez les bovins (Wellnitz et Bruckmaier, 2012). L'activation des TLR initie la transcription d'un certain nombre de molécules immunomodulatrices suivant la translocation du facteur nucléaire NF- κ B dans le noyau (Brightbill et Modlin, 2000).

Un autre récepteur d'intérêt dans la reconnaissance des pathogènes mammaires, retrouvé à la surface des neutrophiles et macrophages de la mamelle, est le récepteur CD14 qui se lie aux complexes LPS-protéines et induit la synthèse et la libération du TNF- α (Paape *et al.*, 2002; Sohn *et al.*, 2007).

1.2.2.2. Défenses humorales

Les défenses non cellulaires de la mamelle font intervenir essentiellement des molécules de l'immunité non spécifique, même si des immunoglobulines spécifiques des agents pathogènes infectant la mamelle peuvent également intervenir, via une intervention dans l'opsonisation des bactéries. Cependant leur faible concentration dans la sécrétion lactée par rapport à leur niveau

retrouvé dans le sérum et le colostrum font que leur implication dans la défense de la mamelle est probablement faible (Tableau 2).

Tableau 2 : Concentrations en immunoglobulines (exprimées en mg/100 mL) dans le sang, le colostrum et le lait (Andrews *et al.*, 2008)

	IgG1	IgG2	IgA	IgM
Sérum	1 400	1 300	39	380
Colostrum	1 000 – 9 000	250	470	540
Lait	40	6	11	9

Le système du complément joue un rôle important dans la défense de la mamelle. Celui-ci est présent en quantité faible mais significative dans la mamelle saine (Rainard, 2003). L'absence du sous composant C1q au niveau de la mamelle ne permet pas l'activation de la voie classique du complément. Néanmoins une voie alternative peut intervenir, avec deux conséquences : le dépôt des agents opsonisant C3b et C3bi sur la bactérie, et la génération du fragment pro-inflammatoire C5a (Rainard *et al.*, 1998; Rainard et Poutrel, 1995). La concentration en C5 varie de manière importante entre les vaches (0,2 à 1,9 % de la concentration sanguine) (Rainard et Poutrel, 2000). Le facteur C5 interviendrait sous certaines conditions dans l'induction de la migration des neutrophiles depuis le secteur vasculaire vers la mamelle (Persson *et al.*, 1993; Smits *et al.*, 1996). La production de C5a varie selon le type d'infection mammaire : une augmentation de la concentration est ainsi observée rapidement après l'inoculation de la glande mammaire par *E. coli* ou *S. uberis* et de manière concomitante avec l'afflux de polynucléaires neutrophiles. Au contraire, aucune augmentation de la concentration dans le lait n'est observée lors d'inoculation de la mamelle par *S. aureus*, alors qu'un afflux de neutrophiles est observé. L'implication du complément dans la défense de la glande mammaire semble très probable (même si son rôle dans l'initiation de l'inflammation demeure incertain).

La lactoferrine est une protéine synthétisée par les lactocytes présentant la capacité de séquestrer le fer nécessaire à la croissance de bactéries : son activité est par conséquent bactériostatique. L'activité de cette protéine, élevée pendant le tarissement, est relativement faible durant la lactation en raison de sa dilution liée à l'accumulation de lait. La concentration en lactoferrine est très variable d'un animal à l'autre durant le tarissement (Le Page et Poutrel, 2007). En réalité, la lactoferrine seule n'est pas responsable de cette activité bactériostatique : le rapport lactoferrine/citrate est un meilleur indicateur de cette capacité à séquestrer le fer pour le rendre indisponible aux bactéries. Le citrate est en effet lui aussi capable de lier le fer mais ce dernier reste utilisable par les micro-organismes. Les concentrations de citrate diminuent au tarissement au contraire de la lactoferrine, renforçant l'effet réel de la lactoferrine. L'effet antibactérien de la lactoferrine pourrait cependant être lié à d'autres propriétés que la simple captation du fer. La présence de récepteurs à la lactoferrine sur certains micro-organismes a été mise en évidence : l'adhésion de la lactoferrine à ces récepteurs pourrait ainsi entraîner directement la mort de la bactérie (Kanyshkova *et al.*, 2003). La lactoferrine modulerait aussi l'activité de leucocytes en augmentant l'effet cytotoxique de certains et en modulant la prolifération et la différenciation d'autres (Kanyshkova *et al.*, 2003). Enfin cette protéine inhiberait aussi la production de cytokines pro-inflammatoires (Komine *et al.*, 2005) et exercerait un effet inhibiteur sur les colibacilles et sur *S. aureus* (Kutilla *et al.*, 2003).

Le lysozyme, bien que capable de lyser les peptidoglycanes des parois bactériennes, est en trop faible quantité dans les sécrétions mammaires pour avoir une importance réelle dans les défenses naturelles de la mamelle (Le Page et Poutrel, 2007). Au contraire, la lactoperoxydase détruit ou inhibe un grand nombre d'espèces bactériennes en produisant de l'hypothiocyanite à partir de thiocyanate et de peroxyde d'hydrogène. Son efficacité est plus importante en lactation du fait d'un pH plus favorable à son activité (Le Page et Poutrel, 2007).

1.3. Agents de mammites

Les espèces bactériennes à l'origine de mammite chez les bovins sont nombreuses. Celles-ci sont classiquement séparées en germes dits « majeurs » (en raison de leur importance clinique, épidémiologique et économique) et en germes « mineurs », bactéries dont l'impact clinique et/ou la prévalence sont considérés moindres. Trois bactéries constituent les agents pathogènes majeurs en France : *E. coli*, *S. aureus* et *S. uberis*.

1.3.1. Les agents pathogènes majeurs

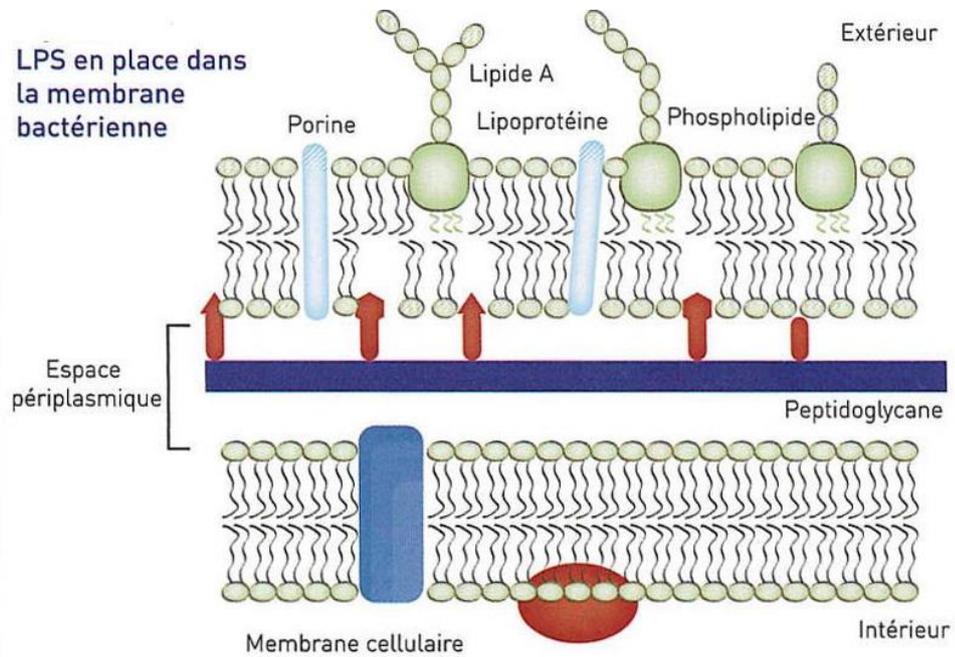
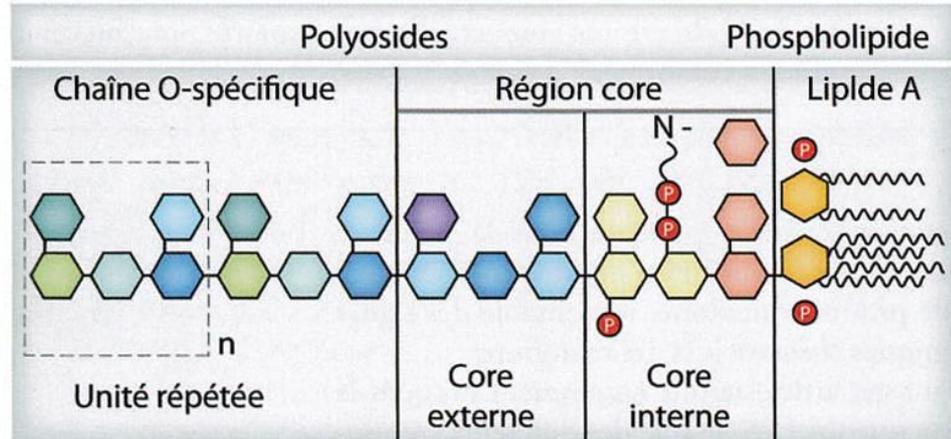
1.3.1.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie de la famille des entérobactéries, de Gram négatif. Il s'agit de l'agent pathogène le plus souvent isolé lors de mammite clinique aiguë chez la vache laitière (Poutrel, 2008). Cette bactérie, contaminant la mamelle *via* l'environnement, possède un grand nombre de facteurs de virulence. Le facteur de virulence le plus important, commun aux autres entérobactéries, est représenté par une endotoxine, le lipopolysaccharide (ou LPS), présente dans la paroi de toutes les bactéries Gram négatif. Ce LPS joue un rôle pro-inflammatoire important, dont les effets sont très importants, tant d'un point de vue clinique que sur l'induction de cytokines aux effets délétères.

Le LPS est composé du lipide A, situé à la partie proximale du LPS, et d'une fraction polysaccharidique (Figure 2). Cette fraction polysaccharidique est composée d'un noyau (core sur la Figure 2) lié au lipide A, et d'une chaîne polysaccharidique terminale qui est également appelée chaîne O-spécifique, et située sur la partie distale du LPS. (Poutrel, 2008). Le lipide A, très conservé parmi les bactéries Gram négatif, est responsable de l'activité endotoxinique : son intégrité est nécessaire à l'activité toxique. Cette fraction permet l'ancrage du LPS dans la membrane bactérienne. La chaîne O-spécifique est quant à elle variable et confère la spécificité antigénique du LPS (Poutrel, 2008).

Figure 2 : Structure du LPS et positionnement dans la membrane bactérienne
(d'après Poutrel, 2008)

Structure du LPS.



1.3.1.2. *Staphylococcus aureus*

S. aureus est une bactérie Gram positif responsable d'un nombre important de mammites chez les bovins, tant subcliniques que cliniques. L'élimination de l'infection est difficile, et favorise le développement d'infections chroniques constituant un réservoir majeur de bactéries au sein du troupeau. Cette bactérie est très majoritairement retrouvée sur la peau et au niveau des muqueuses : la présence de lésions au niveau des trayons (gerçures, lésions d'hyperkératose...) ou au niveau de la mamelle, favorise la création d'un réservoir « animal » de la bactérie.

La bactérie présente plusieurs facteurs de virulence lui permettant d'exercer son pouvoir pathogène, d'infecter de manière profonde le parenchyme mammaire et d'échapper à la réponse immunitaire. *Staphylococcus aureus* produit ainsi une toxine α (qui expliquerait notamment le tableau clinique rencontré lors de mammite gangréneuse), une coagulase, des fibrinolysines, des leucocidines, des hémolysines et des hyaluronidases (Hanzen, 2015a). Après pénétration dans la mamelle, l'expression de certains facteurs de virulence permet l'adhésion de la bactérie avec les cellules de l'hôte et avec la matrice protéique extracellulaire (Wallemacq *et al.*, 2010) ; l'expression de protéines se liant à la fibronectine, au fibrinogène et au collagène permet ainsi l'adhésion bactérienne. Dans un second temps, l'expression de facteurs tels que les hémolysines, les leucocidines et certaines enzymes (coagulases, hyaluronidases, protéases) permet de faciliter l'invasion et la pénétration de la bactérie dans le parenchyme (Oviedo-Boyso *et al.*, 2007). Enfin après avoir franchi la barrière mammaire, la bactérie est capable d'échapper au système immunitaire. En effet, la protéine A inhibe l'opsonisation et la phagocytose médiées par les anticorps (Foster, 2005) alors que la capsule polysaccharidique, exprimée durant la phase de croissance, est capable d'interférer avec la phagocytose (Thakker *et al.*, 1998), même si la contribution de cette capsule à la survie de la bactérie semble plus faible avec les souches bovines de *S. aureus* qu'avec les souches humaines (Wallemacq *et al.*, 2010). La production de biofilm et la capacité à survivre à l'intérieur des cellules épithéliales mammaires (Almeida *et al.*, 1996; Atalla *et al.*, 2010) et à résister à l'activité bactéricide des granulocytes neutrophiles (Garzoni et Kelley, 2009) contribuent également à la survie de la bactérie chez l'hôte. Ces bactéries, initialement inactivées dans les phagocytes, peuvent être libérées et conduire à une nouvelle inflammation.

1.3.1.3. *Streptococcus uberis*

Streptococcus uberis représente à l'heure actuelle le principal streptocoque à l'origine de mammite chez la vache laitière en Europe. Cette bactérie Gram positif exerce sa virulence par différents mécanismes. Certaines souches de *S. uberis* isolées lors de mammites présentent la capacité d'adhérer à l'épithélium mammaire lésé. Cet attachement semble cependant ne pas être associé au premier stade de pathogénicité de cette bactérie (Thomas *et al.*, 1992) : l'adhésion à l'épithélium mammaire ne semble en effet être possible que lorsque l'épithélium mammaire est altéré et serait par conséquent probablement une conséquence de l'inflammation. Elle ne surviendrait donc essentiellement qu'après le début de l'épisode de mammite (LEIGH, 1999). *Streptococcus uberis* est également capable de résister à la phagocytose par les neutrophiles (Hill *et al.*, 1994; Thomas *et al.*, 1994) : cette capacité de résistance serait liée à la production d'une capside d'acide hyaluronique par certaines souches de la bactérie (Leigh et Field, 1994). Cette capside n'aurait en revanche qu'un effet limité sur les mécanismes de résistance à la phagocytose de *S. uberis* par les macrophages (Grant et Finch, 1997).

1.3.2. Les agents mineurs de mammites

Ces agents pathogènes sont ainsi nommés en raison de leur importance clinique moindre (cas notamment des staphylocoques coagulase négative) et/ou de leur faible prévalence.

1.3.2.1. Staphylocoques coagulase négative

Des staphylocoques autres que *S. aureus* peuvent être isolés à partir de quartiers infectés. Ces staphylocoques se caractérisent par une absence de coagulase donnant le nom de Staphylocoques Coagulase Négative (ou SCN) aux bactéries de ce groupe. Considérées comme d'autres bactéries (*Corynebacterium*, les autres entérobactéries qu'*E. coli*, etc.) comme un pathogène mineur de la mamelle (par opposition aux pathogènes majeurs présentés précédemment), ces bactéries sont actuellement, dans certaines études, les bactéries les plus fréquemment isolées lors de mammites subcliniques (Pyörälä et Taponen, 2009; Vanderhaeghen *et al.*, 2014).

Cinq principales espèces sont associées aux mammites bovines (même si plus d'une vingtaine d'espèces ont été isolées dans le lait de ruminants (Pyörälä et Taponen, 2009)) : *Staphylococcus chromogenes* (qui est le SCN le plus fréquemment isolé), *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus haemolyticus* et *Staphylococcus epidermidis*.

Alors qu'un fort taux d'auto-guérison lors de mammites à SCN est généralement rapporté, ces bactéries sont capables de conduire à des infections mammaires de longue durée pouvant parfois persister durant toute la lactation (Vanderhaeghen *et al.*, 2014). Les facteurs de virulence associés à ces germes incluent la capacité à produire des biofilms, la présence de leucocotoxines, d'entérotoxines et d'une cytolysine capable d'interagir en synergie avec le β -hémolysine de *S. aureus* (Vanderhaeghen *et al.*, 2014).

1.3.2.2. Autres bactéries Gram négatif

E. coli est la bactérie Gram négatif la plus fréquemment associée aux mammites bovines. Cependant d'autres bactéries Gram négatif, parmi lesquelles certaines Entérobactéries (*Klebsiella* spp., *Proteus* spp, *Serratia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp. ou encore *Raoutella* spp.) peuvent infecter la glande mammaire (Schukken *et al.*, 2012). L'une des caractéristiques des bactéries Gram négatif concerne la structure de leur membrane externe, celle-ci comprenant le LPS dont la portion lipidique peut agir comme une endotoxine. Si cette structure lipopolysaccharidique est présente chez toutes les bactéries Gram négatif, sa composition varie entre les différentes bactéries Gram négatif (Schukken *et al.*, 2012).

1.3.2.3. *Streptococcus agalactiae*

S. agalactiae est un coque Gram positif, très prévalent il y a quelques décennies en Europe, il est aujourd'hui encore très prévalent en Amérique du Nord. Sa prévalence a largement chuté depuis l'instauration de traitements systématiques au tarissement et en améliorant l'hygiène de la traite (« plan anglais » mis en œuvre durant les années 80). Cette bactérie présente une capacité à adhérer aux cellules épithéliales mammaires (et plus précisément aux cellules des canaux galactophores) conduisant à une inflammation locale, souvent chronique en l'absence de traitement. La

contamination des animaux se fait très classiquement durant la traite à partir d'un animal infecté (germe dit « de traite ») (Keefe, 2012).

1.3.2.4. *Streptococcus dysgalactiae*

Streptococcus dysgalactiae est, comme *S. uberis* et *S. agalactiae*, un coque Gram positif. Streptocoque appartenant au groupe sérologique C dans la classification de Lancefield, cette bactérie présente plusieurs facteurs de virulence favorisant le développement d'une infection persistante (Calvinho *et al.*, 1998). Plusieurs facteurs de virulence déjà cités précédemment (fibrinolysine, hyaluronidase, capsule) ont également été décrits pour *S. dysgalactiae*. La bactérie présente également la capacité d'interagir avec de nombreuses protéines de l'hôte (IgG, albumine, α -2 macroglobuline, fibronectine...). Enfin *S. dysgalactiae* présente la capacité à adhérer à l'épithélium mammaire (Calvinho *et al.*, 1998). Tous ces facteurs de virulence favorisent le développement d'une infection persistante en favorisant la protection de la bactérie des défenses de l'hôte et en favorisant son maintien dans la mamelle.

1.3.2.5. *Mycoplasma bovis*

Mycoplasma bovis est une bactérie particulière : les mycoplasmes sont issus des bactéries Gram positif par évolution dégénérative conduisant à une diminution du génome bactérien, avec notamment la disparition de la capacité à produire une paroi bactérienne. Les facteurs de virulence de cette bactérie incluent son absence de paroi, des lipoprotéines variables de surface (Vsp), une capacité d'adhésion aux cellules épithéliales mammaires (favorisant leur caractère contagieux) et d'invasion des cellules eucaryotes (Fox, 2012). De plus, *M. bovis* présente la capacité à moduler la réponse du système immunitaire, en inhibant la prolifération lymphocytaire, en altérant la réponse cellulaire T-helper et en influant sur les titres en anticorps circulants (Fox, 2012).

Cette bactérie, associée à des mammites dans plusieurs pays (Amérique du Nord, pays du nord de l'Europe) n'est néanmoins pas associée à l'heure actuelle à des épisodes de mammites en France.

1.3.2.6. *Corynebacterium bovis*

Corynebacterium bovis a été décrit comme une bactérie commensale de la glande mammaire des bovins mais a été également isolée à partir de lait infecté lors de mammites (Gonçalves *et al.*, 2016). Ce bacille Gram positif est une cause rare de mammite bovine. La contamination se réalise principalement durant la traite (Taponen *et al.*, 2017).

1.3.2.7. *Prototheca zopfii*

Certaines mammites peuvent être causées par des algues unicellulaires, principalement *Prototheca zopfii*. Cette algue induit principalement des mammites subcliniques ou des mammites cliniques aiguës. Ces mammites sont alors, par définition, résistantes aux traitements antibiotiques réalisés (Alves *et al.*, 2017; de Vargas *et al.*, 1998). La source de *Prototheca zopfii* est principalement environnementale (eaux stagnantes ou vives, eau des abreuvoirs, zones boueuses) (Alves *et al.*,

2017). La contamination se fait depuis l'environnement mais peut également se dérouler durant la traite.

1.4. Physiopathologie de l'infection mammaire

Comme abordé au début de ce chapitre, une mammite correspond à une inflammation de la mamelle suite à la contamination de celle-ci par un agent pathogène (le plus souvent une bactérie). Suite à l'infection, la réponse immunitaire de l'hôte conduit au développement d'une inflammation aux conséquences parfois sévères (mammites cliniques de grade élevé) mais dont l'influence peut être malgré tout importante, quel que soit le type de mammite rencontré. Comme abordé au paragraphe 1.2.2.1.2, la capacité de réponse du système immunitaire à un grand nombre de pathogènes est possible par reconnaissance de la signature moléculaire d'un pathogène, *via* des récepteurs cellulaires spécifiques. Une fois le pathogène reconnu, la croissance bactérienne est inhibée suite à l'afflux important de leucocytes depuis le sang vers le tissu mammaire (Rainard et Riollet, 2006). Plus spécifiquement, les polynucléaires neutrophiles sont recrutés en grande quantité suite à une infection bactérienne, phagocytant et tuant les pathogènes mammaires par différents mécanismes (action des ions superoxydes, hypochlorites, peroxyde d'hydrogène ou encore par des facteurs solubles tels que la lactoferrine et les défensines) (Harmon, 1994; Paape *et al.*, 2003; Sordillo et Streicher, 2002).

Plusieurs cytokines sont induites suite à l'infection, de manière variable selon les agents pathogènes. Parmi toutes celles-ci, le TNF- α joue un rôle central dans l'initiation de la réponse immunitaire de la mamelle lors de mammites aiguës dues à des bactéries coliformes (Sordillo and Peel, 1992). Certaines chémokines comme l'IL-8 ou RANTES jouent également un rôle clé en permettant l'attraction des leucocytes circulants (Nishimura, 2003). Enfin la réponse inflammatoire est favorisée par l'action du complément, de la lactoferrine et du lysozyme (Rainard et Riollet, 2006).

Les paragraphes suivants présenteront les différences de stimulation des cytokines inflammatoires selon les agents pathogènes.

1.4.1. Effet de l'infection de la glande mammaire par *E. coli*

Comme évoqué précédemment, les TLRs sont capables de reconnaître des motifs antigéniques partagés par de nombreuses bactéries. Ainsi, le TLR4, exprimé par un grand nombre de cellules comme les macrophages, les neutrophiles et les cellules épithéliales, reconnaît le LPS bactérien fixé, et plus particulièrement sa fraction lipidique A (Schukken *et al.*, 2012).

L'activation de TLR4 conduit à la génération d'une réponse inflammatoire modulée en partie par la production de cytokines (Schukken *et al.*, 2011). Lors d'inoculation intramammaire d'*E. coli*, des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL- β sont produites par les macrophages : ces cytokines sont des inducteurs potentiels de la réponse immunitaire, ils conduisent à la migration des neutrophiles vers le site de l'infection et favorisent le développement de l'hyperthermie (Bannerman, 2009). D'autres cytokines, comme l'IL-10, contribuent à la résolution de l'inflammation en inhibant les cytokines pro-inflammatoires et en induisant un rétrocontrôle négatif sur la réponse pro-inflammatoire initiale (Bannerman, 2009). L'augmentation de la concentration en certaines cytokines (TNF- α , IL-1, IL-6 et probablement d'autres cytokines) lors de mammites à coliformes (lors d'infections naturelle ou expérimentale par infusion intramammaire d'*E. coli* ou d'endotoxines) est retrouvée à l'étage mammaire mais aussi au niveau sanguin, les concentrations de ces cytokines

augmentant dans le sang périphérique (Blum *et al.*, 2000, 2000; Nakajima *et al.*, 1997; Ohtsuka *et al.*, 2001; Persson Waller *et al.*, 2003; Steiger *et al.*, 1999). De plus, les mammites sont associées à une augmentation de la concentration en oxyde nitrique (NO) dans le lait. Enfin l'instillation intramammaire d'endotoxines s'accompagne d'une augmentation de la concentration en PGF2 α dans le lait (Giri *et al.*, 1984) et de la concentration sanguine en PGFM, le principal métabolite des PGF2 α (Hockett *et al.*, 2000). D'autres médiateurs de l'inflammation (thromboxanes, leucotriènes, etc.) sont également stimulés lors de mammité à *E. coli* (Poutrel, 2008).

Ces effets sont essentiellement dus à l'action de l'endotoxine d'*E. coli*, comme le démontre l'augmentation du niveau d'expression de *TNF* et de la cyclooxygénase-2, très rapidement après l'instillation intramammaire de LPS (Schmitz *et al.*, 2004). Les médiateurs biochimiques de l'immunité innée (lactoferrine, lysozyme et la synthèse d'oxyde nitrique inductible) sont également stimulés par le LPS, leur concentration augmentant dès six heures après l'administration de LPS (Schmitz *et al.*, 2004). L'ARNm des molécules de l'inflammation augmentent aussi dans les quartiers ne recevant pas de LPS mais dans des proportions moindres (Schmitz *et al.*, 2004).

L'essentiel des connaissances portant sur la réponse cytokinique et pro-inflammatoire concernent l'effet du LPS d'*E. coli* sur la mamelle et l'organisme. Cette réponse cytokinique varie cependant selon les bactéries Gram négatif infectant la mamelle.

1.4.2. Différence de profil des réponses inflammatoires selon le type de bactérie Gram négatif infectant la mamelle

Des différences dans l'impact clinique sont souvent notées lors de mammité à Gram négatif en fonction de la bactérie impliquée (Bannerman, 2009). Ainsi, les mammites dues à *Klebsiella* sont classiquement plus sévères que celles à *E. coli*, alors que les mammites dues à *Serratia* spp. sont quant à elles souvent moins graves que les mammites à *E. coli* (Erskine *et al.*, 2002; Gröhn *et al.*, 2004, 2005). De plus, les mammites à *Klebsiella* spp. et *Serratia* spp. se caractérisent par une durée d'infection plus importante par rapport aux mammites à *E. coli* (Todhunter *et al.*, 1991). Ces constatations cliniques semblent prendre leur source dans des différences d'induction de la réponse inflammatoire fonction du type d'agent. Schukken et collègues (Schukken *et al.*, 2012), présentant les résultats de Bannerman (2009), révèlent que la réponse TNF- α et IL-10 de vaches inoculées avec différentes bactéries Gram négatif sont différentes (Figure 3). La réponse pro-inflammatoire est plus élevée lors d'infection par *Klebsiella* que lors d'infection par *E. coli*, elle-même plus importante que celle observée lors d'inoculation intramammaire de *Serratia*. Ceci pourrait expliquer la différence d'intensité clinique observée lors de mammité en fonction des germes impliqués. De plus, l'inoculation de *Klebsiella* conduit à une production d'IL-10 plus élevée que lors d'infection par *E. coli*.

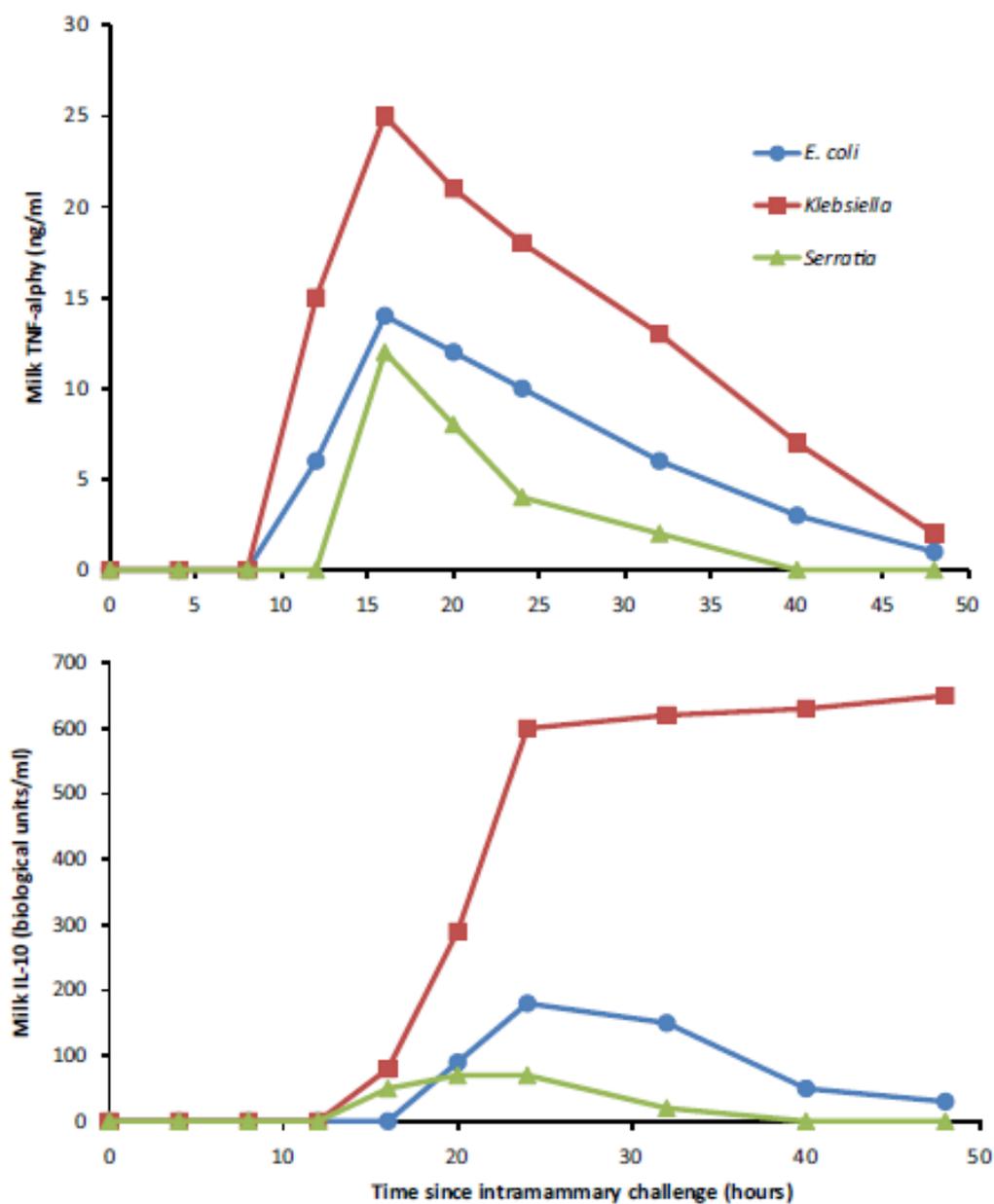
Les niveaux de production de cytokines lors d'infection par *Serratia* paraissent faibles pour un grand nombre de cytokines (C5a, IL-8, IL-10, CD14 ou encore l'IFN- γ) (Bannerman, 2009). Il est généralement suggéré qu'une réponse limitée en cytokines contribue à favoriser le développement d'infection intramammaire chronique (Bannerman *et al.*, 2004). Ces observations physiopathologiques permettent donc de comprendre les observations de terrain, les mammites à *Serratia* étant souvent cliniquement modérées mais plus souvent chroniques que les mammites à *Klebsiella* et *E. coli*.

Les causes de cette différence de la réponse en cytokine inflammatoire en fonction du type de bactérie Gram négatif semble être liées au nombre de répétition du motif acyl du lipide A. La structure du lipide A d'*E. coli* est composée de six chaînes acyl et de deux groupes phosphates. Cette structure est l'un des plus importants stimulants de la réponse immunitaire innée *via* sa fixation au récepteur TLR-4 : une fois libéré, le LPS se fixe sur la protéine de fixation du LPS (« LPS Binding protein » ou LBP), ce complexe étant reconnu par le récepteur TLR-4 (Schukken *et al.*, 2011).

Figure 3 : Profil cytokinique après infection expérimentale avec trois espèces différentes de bactéries Gram négatif.

(d'après Bannerman, 2009, adapté par Schukken *et al.*, 2012)

Les concentrations en TNF- α du lait sont présentées en haut de la figure ; les concentrations en IL-10 du lait sont présentées en bas de la figure



Changer le nombre de groupements acyls de six à cinq diminue la réponse biologique d'un facteur 100 (Bardoel et Strijp, 2011). De plus, les lipides A ne comprenant que quatre groupes acyls sont des antagonistes du TLR-4, en empêchant la fixation du LPS au récepteur (Bardoel et Strijp, 2011). Le LPS d'*E. coli* comprend six groupements acyl ; celui de *Serratia* cinq et celui de *Klebsiella* sept groupements. La différence de structure du lipide A de ces différentes entérobactéries et leur interaction avec TLR-4 pourraient, en partie, expliquer la différence de profil de la réponse immunitaire et d'impact clinique, détaillés précédemment.

1.4.3. Effet de l'infection par *S. aureus*

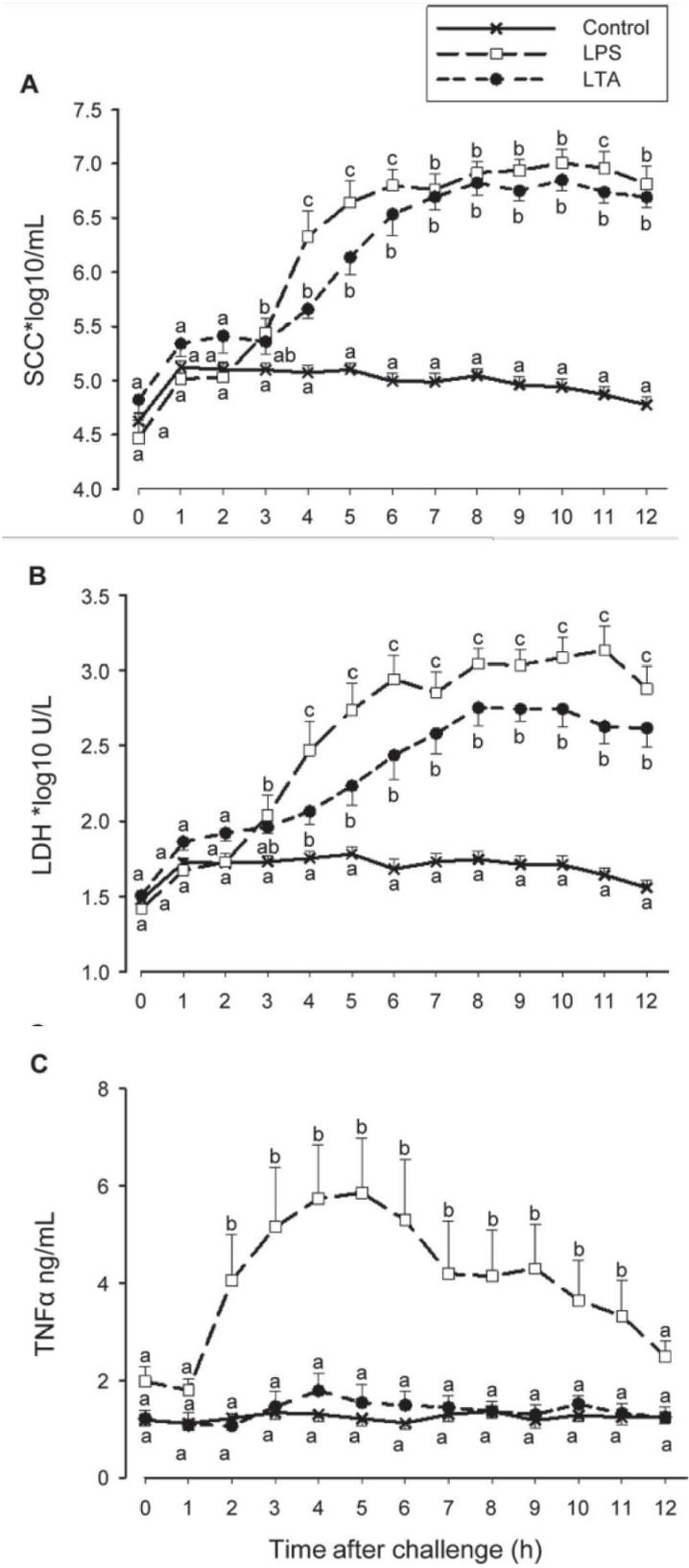
Les staphylocoques, comme toutes les bactéries Gram positif, ne présentent pas de lipopolysaccharides : le principal facteur stimulant la réponse innée de l'hôte est l'acide lipotéichoïque (LTA) (Van Amersfoort *et al.*, 2003), composant important de la paroi bactérienne présent dans la couche de peptidoglycane. L'acide lipotéichoïque stimule les TLR-2, contrairement au LPS qui lui stimule le TLR-4 (Ku *et al.*, 2005). La réponse inflammatoire et immunitaire induite par la présence de LTA dans la glande mammaire est différente de celle induite par le LPS (Wellnitz *et al.*, 2011), ce qui est observé sur le terrain : les effets de l'infection étant différents entre une infection à *S. aureus* (infection subclinique, tendance à la chronicité) et une infection à *E. coli* (mammite clinique, aiguë).

Dans un modèle expérimental (administration de LTA ou de LPS par voie intramammaire), Wellnitz et ses collaborateurs ont mis en évidence que le LTA ne conduisait pas à une augmentation de la concentration en TNF α , contrairement au LPS (Figure 4, courbe C) (Wellnitz *et al.*, 2011). L'administration de ces deux molécules conduit à une augmentation des concentrations en cellules somatiques (confirmant qu'une inflammation mammaire pouvait être induite par le LPS et le LTA) et à une augmentation de la lactate déshydrogénase (l'activité de la LDH étant plus importante chez les animaux recevant le LPS). La quantité d'ARNm du TNF α , de l'IL-1 β , et de l'IL-8 est augmentée dans les cellules mammaires des vaches recevant LPS ou LTA ; cette augmentation étant plus marquée chez les vaches éprouvées avec le LPS. L'expression de la lactoferrine est quant à elle diminuée dans les deux lots (Wellnitz *et al.*, 2011).

L'infection par *S. aureus* s'accompagne d'une augmentation de la concentration sanguine en amyloïde A sérique et en NAGase dans le lait, confirmant l'inflammation locale et systémique lors de mammite à *S. aureus* (Bannerman *et al.*, 2008). De nombreuses cytokines sont également produites suite à l'infection mammaire : production d'IFN- γ , IL-12, TGF- α et TGF- β 1. IFN- γ et IL-12 conduisent au développement de la réponse immune de l'hôte en activant neutrophiles et macrophages et en orientant la réponse vers une réponse de type Th1 (Bannerman *et al.*, 2008). TGF- α présente des propriétés pro-inflammatoires, stimule la production de prostaglandines et favorise de manière synergique les propriétés pro-inflammatoires des autres cytokines, alors que le TGF- β 1 au contraire réduit l'inflammation (Bannerman *et al.*, 2008). Au bilan, les cytokines induites lors d'infection mammaire par le staphylocoque doré sont différentes de celles observées lors de mammite à *E. coli*.

Figure 4 : Effet de l'administration de LPS ou d'acide lipotéichoïque par voie intramammaire sur les concentrations en cellules somatiques du lait, l'expression de la LDH et du TNF α

(d'après Wellnitz *et al.*, 2011)



1.4.4. Effet de l'infection par *S. uberis*

Streptococcus uberis est une cause fréquente de mammite bovine. Cet agent pathogène induit des mammites de sévérité variable (King, 1981), certaines souches dites « d'environnement » pouvant conduire à des mammites cliniques de grade élevé (grade 2 ou grade 3) alors qu'au contraire d'autres souches, plus adaptées à l'hôte, conduisent à des mammites subcliniques et se transmettent de vaches à vaches selon un modèle contagieux (Durel *et al.*, 2011).

Dans un modèle d'infection expérimentale, *S. uberis* induit lors d'infection chez l'hôte la sécrétion dans le lait de TNF- α , d'IL-1 β et d'IL-8, soixante-six heures après l'infection ; le pic de TNF- α et d'IL-8 survenant 120 heures après l'infection, précédant le pic de signes cliniques (Rambeaud *et al.*, 2003). De plus, une étude s'est intéressée à la différence de réponse inflammatoire induite par une souche de *S. uberis* conduisant *in vivo* à une mammite clinique aiguë et une souche isolée d'un cas de mammite chronique (Berger *et al.* 2009, cité par Wellnitz et Bruckmaier, 2012). De manière très intéressante, cette équipe a montré que la souche induisant une forme clinique aiguë conduisait à une expression respectivement deux et quatre fois plus importante d'IL-8 et d'IL-1 β lors d'infection *in vitro* de cellules épithéliales mammaires par rapport à la souche isolée lors de mammite chronique. Dans cette étude, chaque souche induisait une réponse inflammatoire différente, expliquant la différence de pathogénicité observée cliniquement.

1.4.5. Effet de l'infection par d'autres pathogènes mammaires

A l'échelle de l'animal, les infections par les staphylocoques coagulase négative sont généralement associées à une inflammation cliniquement modérée, les infections étant typiquement subcliniques ou de faible grade clinique (Vanderhaeghen *et al.*, 2014). Les effets de l'infection par ces bactéries sur l'inflammation mammaire et les cytokines inflammatoires ont été moins étudiés que pour les bactéries majeures.

L'élévation des concentrations en cellules somatiques sont souvent faibles à modérées même si, dans certains cas, l'élévation peut être importante. Les effets semblent cependant varier en fonction des espèces de SCN. Ainsi, l'infection expérimentale avec *Staphylococcus simulans* conduit à une réponse immune plus importante que lors d'infection avec *Staphylococcus epidermidis*, comme le montrent une élévation plus élevée des concentrations en cellules somatiques dans le lait et l'élévation plus élevée des concentrations en IL-1 β et en IL-8 (Simojoki *et al.*, 2011). Les concentrations en cellules somatiques du lait, en amyloïde A sérique (SAA) et en Milk Amyloid A (MAA) sont significativement plus faibles lors d'infection par *Staphylococcus chromogenes* que lors d'infection par *S. simulans* et *S. epidermidis* (Simojoki *et al.*, 2009).

1.4.6. Contexte particulier du péripartum favorisant la persistance de l'inflammation

Comme le soulignent les paragraphes précédents, les effets de l'infection de la glande mammaire sur le développement de l'inflammation varient selon les agents pathogènes mais aussi selon les souches impliquées. L'inflammation est un phénomène normal nécessaire à la guérison de l'animal. Cependant certains phénomènes contribuent à rendre l'inflammation non contrôlée et délétère. Ceci est notamment vrai chez les ruminants lors du post-partum (Humblot *et al.*, 2006).

Dans la situation particulière de la vache en post-partum, l'inflammation persiste anormalement (Chastant-Maillard, 2016). Une réponse inflammatoire de phase aiguë est observée et bien décrite chez la vache après le vêlage (Bradford *et al.*, 2015). Cet état inflammatoire anormal suite au vêlage est lié aux mécanismes métaboliques complexes rencontrés chez la vache durant la phase de transition entre la période sèche et le début de lactation. En effet, le déficit énergétique rencontré classiquement en post-partum ainsi que l'impact d'une alimentation riche en concentrés énergétiques en début de lactation favorisent l'augmentation de la concentration ruminale et intestinale en LPS, à l'origine d'une réponse inflammatoire. A ce stade post-partum, l'animal doit également faire face à un état d'immunodépression dont les causes sont diverses (hypocalcémie subclinique, déficit énergétique, décharge corticoïdes, etc.), et sont favorisées par les stress thermiques et sociaux liés aux changements de lots et par un stress oxydatif lié à différentes carences en antioxydants. Il en résulte un maintien anormal de l'inflammation (Bradford *et al.*, 2015). Or, pour plusieurs auteurs, l'impact de cet état inflammatoire sur la santé et la production des vaches laitières est important (Bradford *et al.*, 2015; Chastant-Maillard, 2016; Humblet *et al.*, 2006; Sordillo et Raphael, 2013).

1.4.7. Douleur engendrée par les mammites

Les données sur l'impact des mammites cliniques et subcliniques sont très nombreuses. Elles concernent leurs effets épidémiologiques, cliniques, physiologiques, immunologique mais également leur impact sur la réponse inflammatoire. En revanche, l'impact des mammites sur le comportement et le bien-être animal est encore très peu étudié : cette notion est pourtant fondamentale face aux préoccupations actuelles concernant la douleur animale et le bien-être des animaux d'élevage. D'autre part, la douleur, comme l'inflammation, est associée à des modifications endocrines, hématologiques, métaboliques, immunitaires et comportementales à même d'impacter la santé, la reproduction et les productions de l'animal.

Sur le terrain, les mammites de grade élevé sont considérées comme des affections douloureuses alors que les mammites de grade plus faible sont considérées comme modérément douloureuses (Huxley et Whay, 2006). Une étude s'est intéressée aux effets de mammites induites expérimentalement suite à l'administration intramammaire de LPS chez 20 vaches laitières, modèle expérimental largement utilisé pour reproduire les effets d'une mammite clinique de grade 3 (Zimov *et al.*, 2011). Les animaux recevaient de manière aléatoire une administration de LPS ou de sérum physiologique intramammaire. Les températures rectales et les concentrations en cortisol sérique étaient plus élevées chez les vaches recevant le LPS intramammaire que chez les vaches témoins au cours des 24 heures suivant l'instillation. De la même manière, les vaches recevant le LPS présentaient une diminution du temps passé à manger, à ruminer et à se reposer. Le nombre de contractions ruminales était plus faible chez les animaux atteints de mammite. Cette étude confirme ainsi les observations réalisées sur le terrain, démontrant que les mammites cliniques associées à des endotoxines de bactéries Gram négatif s'accompagnent d'une modification du comportement, secondaire à l'inflammation et à la douleur.

La douleur associée aux cas de mammites cliniques de grade 1 et 2 a également été étudiée, les critères retenus étant des signes observables de douleur (vocalisation, modification du comportement, modification de la posture), la fréquence cardiaque, la fréquence respiratoire et la température rectale des animaux atteints par comparaison aux animaux témoins. Ces études, synthétisées par Leslie et Petersson-White en 2012 (Leslie et Petersson-Wolfe, 2012) ont montré que les vaches présentant une mammite clinique de grade 2 présentaient une fréquence cardiaque et respiratoire, ainsi qu'une température rectale significativement plus élevées que les vaches présentant une mammite de grade 1 et que les vaches saines. Les concentrations en cortisol sérique, indicateur d'un stress, étaient significativement plus élevées chez les vaches atteintes de mammite.

Enfin, les vaches présentant une mammite clinique, quel que soit son grade, présentaient une distance entre les jarrets plus importante que les vaches normales, pouvant indiquer une modification des aplombs des membres postérieurs pour tenter de limiter la pression exercée sur la mamelle lors de mammite (Leslie et Petersson-Wolfe, 2012). Les données de ces études suggèrent ainsi une augmentation de la sensibilité à la pression de la mamelle lors de mammite, suggérant un processus douloureux associé à l'inflammation mammaire. Dans une autre étude, l'évaluation de la douleur lors de mammite a mis en évidence un appui diminué sur le membre ipsilatéral au quartier affecté par rapport à des animaux témoins, probablement en raison de la douleur présente (Medrano-Galarza *et al.*, 2012).

Les résultats précédents confirment que les mammites cliniques sont associées à une douleur chez l'animal atteint. Une étude plus récente a évalué la présence d'une douleur chez des vaches atteintes de mammites cliniques mais aussi chez des vaches atteintes de mammites subcliniques (Peters *et al.*, 2015). Dans cette étude le seuil de réponse à une douleur thermique était évalué chez des vaches présentant une mammite clinique, subclinique ou ne présentant pas de mammite. Une mammite subclinique était définie comme faible lorsque la concentration en cellules somatiques était supérieure à 200 000 cellules/ml sans modification de l'aspect du lait, alors qu'une mammite subclinique était définie comme modérée lorsque la concentration en cellules somatiques était supérieure à 500 000 cellules/ml. Le seuil de réponse à la douleur thermique était significativement plus faible chez les vaches atteintes de mammites cliniques par rapport aux vaches saines ($P < 0,05$), conformément aux résultats des autres travaux présentés précédemment. Une diminution du seuil de réponse au stimulus douloureux était également observé chez les vaches à mammites subclinique modérée (seuil de 53,5°C) par rapport aux vaches saines (seuil de 56,9°C), mais cette différence n'était pas significative ($P < 0,1$). Le seuil de réponse diminuait à mesure que le log10 de la concentration en cellules somatiques augmentait : ainsi, l'augmentation d'une unité du log10 de la concentration cellulaire était associée à une augmentation de la probabilité d'avoir une valeur du seuil basse (inférieure à 55,8°C). Cette étude souligne la douleur probable associée avec les inflammations subcliniques de la mamelle, douleur d'autant plus importante que l'inflammation est élevée.

L'impact des mammites sur l'appétit et le comportement a été étudié par quelques équipes. De nombreuses études ont ainsi montré un impact des mammites de grade élevé, induites expérimentalement, sur le temps passé couché, sur l'activité et sur le comportement alimentaire des animaux (Fogsgaard *et al.*, 2012; Siivonen *et al.*, 2011). Ces études expérimentales corroborent ainsi les observations faites sur le terrain, ce type de mammite étant associé à un impact clinique important. Cependant ce type de mammite n'est pas le type de mammite le plus fréquemment rencontré dans les élevages. L'équipe de Fogsgaard s'est récemment intéressée à l'impact de mammites cliniques survenant naturellement, sur le comportement de vaches hébergées en stabulation libre, dans des élevages équipés de robots de traite (Fogsgaard *et al.*, 2015). Les vaches atteintes de mammites cliniques présentaient une diminution de l'appétit par rapport aux vaches non atteintes, et ce dès dix jours avant le début des symptômes locaux mammaires (Figure 5). Cette diminution de l'appétit est observée jusqu'à sept jours après la fin du traitement antibiotique. Dans cette étude, aucune vache ne recevait de traitement anti-inflammatoire non stéroïdien ni de traitement antalgique dans le cadre de la prise en charge médicale des mammites.

Dans cette même étude, des signes de douleur plus fréquents durant la traite étaient observés chez les vaches atteintes de mammites par rapport aux vaches saines ; le nombre de coups observés durant la traite étant significativement plus élevé chez les animaux présentant une mammite dès deux jours avant l'observation des symptômes et jusqu'à dix jours après le début des signes (Fogsgaard *et al.*, 2015) (Figure 6). De même, les vaches à mammite clinique passaient moins de temps couchées et se déplaçaient moins que les vaches saines.

Au bilan, il apparaît que tous les types de mammites sont associés à une douleur : celle-ci, très marquée et facilement décelable pour les mammites cliniques de grade élevé, est également une problématique à prendre en considération lors de mammites cliniques de faible grade mais également lors de mammites subcliniques. La douleur, et plus précisément ses conséquences au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire, sur l'alimentation de l'animal ou encore sur la production de cortisol, peut être associée à des perturbations plus larges au niveau de l'organisme.

Figure 5 : Consommation alimentaire quotidienne chez des vaches à mammites et chez des vaches saines nourries à volonté (d'après Fogsgaard *et al.*, 2015). Les vaches atteintes de mammites recevaient un traitement antibiotique à J₀, J₁ et J₂.

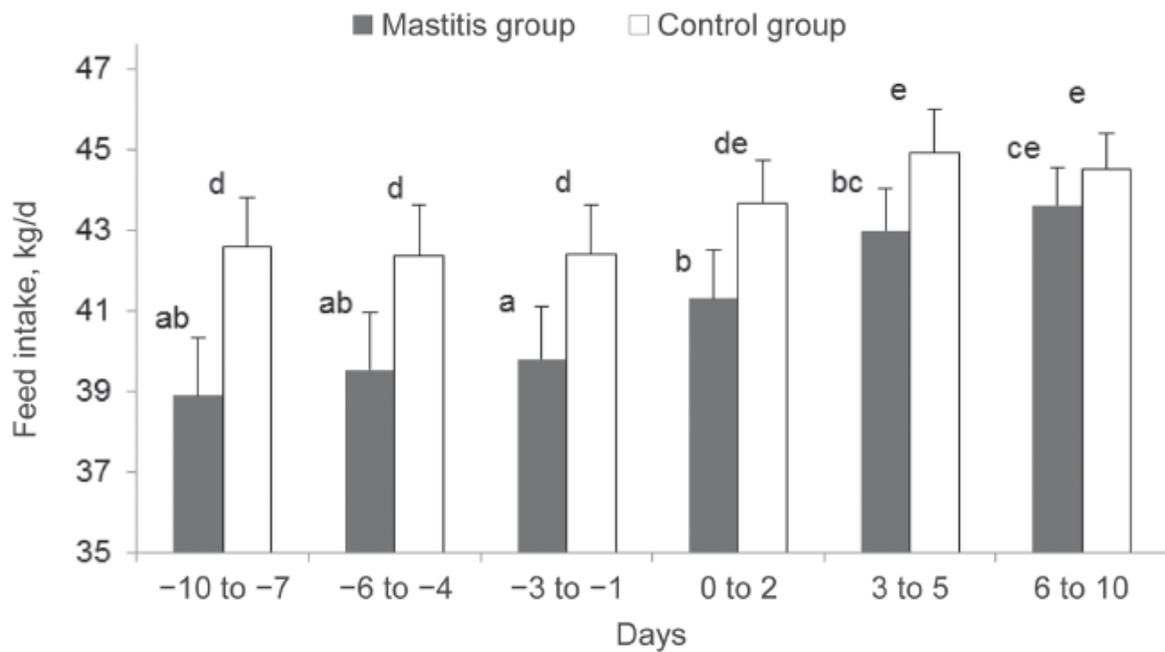
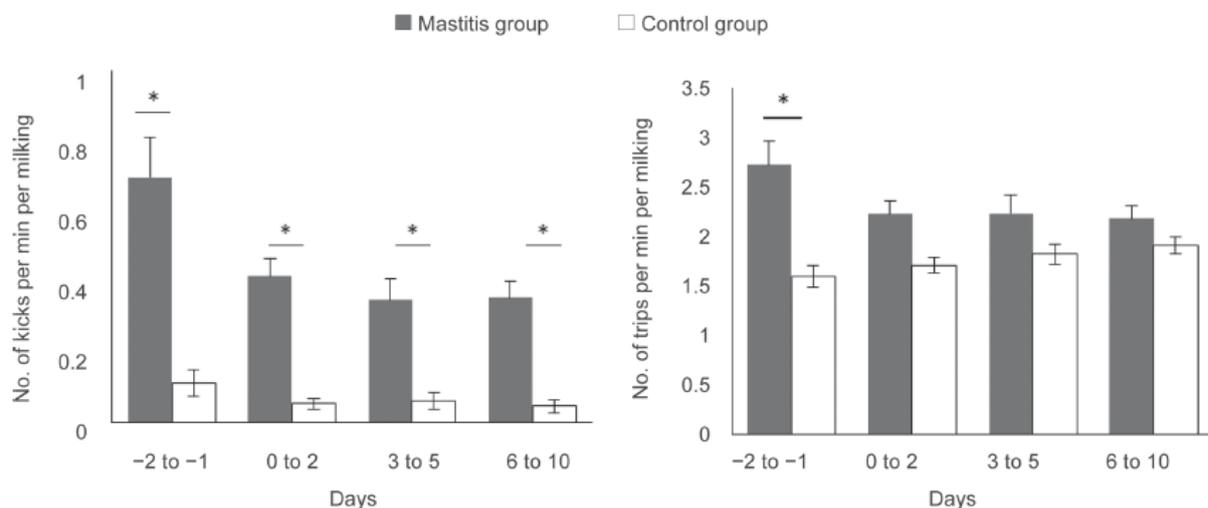


Figure 6 : Fréquence moyenne des coups de pieds portés par les vaches durant la traite dans un robot de traite par les vaches atteintes de mammite clinique ou par des vaches saines (d'après Fogsgaard *et al.*, 2015).

Les vaches atteintes de mammites recevaient un traitement antibiotique à J₀, J₁ et J₂.



1.5. Traitement anti-inflammatoire lors de mammite bovine

Les mammites bovines sont le résultat d'une inflammation secondaire à une infection bactérienne. La conduite thérapeutique, variable selon le grade de la mammite, repose toujours sur l'utilisation d'une antibiothérapie par voie intramammaire et/ou systémique. L'objectif de ce paragraphe n'est pas de présenter les différents types de traitement ni les critères de choix des traitements antibiotiques mais de mettre l'accent sur la gestion de l'inflammation et de la douleur lors des épisodes de mammite.

En effet, la décision d'ajouter au traitement antibiotique classique un traitement anti-inflammatoire est le plus souvent prise lors de mammites cliniques sévères. Une étude a ainsi souligné qu'à la fois les éleveurs laitiers et les vétérinaires reconnaissent la présence de douleur et de souffrance lors de mammite clinique sévère (Hewson *et al.*, 2007). L'usage de traitement anti-inflammatoire est souvent absent lors de mammite clinique de grade faible ou de mammite subclinique ; ainsi, dans le référentiel de traitement des mammites édité par la SNGTV en 2013, le traitement anti-inflammatoire n'est recommandé que pour les mammites de grade élevé (grade 3) (Bosquet *et al.*, 2013). Ce paragraphe, après avoir rappelé ce que sont les AINS et leur mode de fonctionnement, propose une synthèse des effets, observés dans la littérature, de l'adjonction au traitement antibiotique d'un traitement AINS lors de mammite clinique.

1.5.1. Qu'est-ce qu'un anti-inflammatoire ?

1.5.1.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une famille de molécules dérivées du cortisol. En pharmacopée vétérinaire des animaux de rente, ces molécules sont exclusivement représentées par les glucocorticoïdes suivants : la dexaméthasone, la prednisolone et la méthylprednisolone (Ferran et Bousquet-Melou, 2015). Les glucocorticoïdes agissent par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique intracytoplasmique. La liaison de la fraction libre de la molécule au récepteur conduit à une migration de l'ensemble ligand-récepteur dans le noyau, où s'exerce l'effet biologique par action indirecte sur les facteurs de transcription de gènes de l'inflammation. Une partie de l'effet anti-inflammatoire des AIS passe par l'inhibition des prostaglandines et des leucotriènes en bloquant la phospholipase A2. Ce blocage de la production de ces deux voies de l'inflammation conduit à un effet biologique des AIS plus large que celui des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Cependant ces molécules ne sont pas dénuées d'effet secondaire (sur le système immunitaire et sur le système rénal notamment).

Ces molécules peuvent être utilisées, dans le cas de mammite, pour lutter contre le choc endotoxinique (Ferran et Bousquet-Melou, 2015) mais peuvent également être intégrées, pour leur action locale, à certaines préparations intramammaires, en association avec des antibiotiques.

1.5.1.2. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent une classe thérapeutique exerçant un effet anti-inflammatoire et analgésique en réduisant la synthèse de prostaglandines par l'intermédiaire de l'inhibition de la cyclooxygénase (COX) au niveau des tissus périphériques mais aussi au niveau du système nerveux central (Ochroch *et al.*, 2003). Ces molécules, largement

développées dans la pharmacopée vétérinaire (Tableau 3), permettent une action sur une autre cible de la cascade inflammatoire par rapport aux anti-inflammatoires stéroïdiens. L'enzyme COX existe sous la forme de deux isoformes : *COX-1* est exprimé de manière constitutive à la fois par le système nerveux périphérique et central mais aussi par la plupart des cellules de l'organisme (à l'exception des érythrocytes) alors que *COX-2* code pour une enzyme dont la synthèse est, quant à elle, induite par des facteurs libérés lors de lésions cellulaires (et donc notamment lors d'inflammation) (Coetzee, 2013).

Les différents AINS présentent un certain nombre de caractéristiques similaires (la plupart des molécules étant des acides faibles modérément à fortement solubles dans les lipides) mais diffèrent notamment sur des bases pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Tous les AINS présentent des propriétés analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques et anti-endotoxémiques. Une inhibition élevée de la production de prostaglandines (80 voire 95 % de leur production) est nécessaire pour aboutir à une réponse clinique adéquate (Lees, 2009). L'une des principales différences entre les différents AINS porte sur leur action plus ou moins sélective sur les différents types de COX. Ainsi *COX-2* est une enzyme essentiellement synthétisée lors d'inflammation (même si *COX-2* est exprimé de manière constitutive par certaines cellules de l'organisme) alors que *COX-1* est quant à elle essentiellement constitutive (Lees, 2009). Les AINS sont par conséquent présentés classiquement selon leur impact sur les différentes cyclooxygénases (Tableau 3). A l'heure actuelle, aucun AINS spécifique uniquement de *COX-2* n'est disponible sur le marché vétérinaire des animaux de rente (certaines molécules étant disponibles chez les carnivores domestiques).

Tableau 3 : Principaux AINS disponibles en thérapeutique chez les animaux de rente
(adapté de Lees, 2009)

Classe biochimique		Classification des inhibiteurs de COX
Acide carboxylique	Salicylates	
	Salicylate de sodium	Inhibiteur préférentiel ou sélectif de COX-1
	Acide acétylsalicylique	Inhibiteur préférentiel ou sélectif de COX-1
	Acide 2-arylpropionique	
	Carprofène	Inhibiteur non spécifique de COX
	Kétoprofène	Inhibiteur non spécifique de COX
Acide 2-anthranalique	Flunixin	Inhibiteur non spécifique de COX
	Acide tolfénamique	Inhibiteur préférentiel ou modérément spécifique de COX-2
Acide énoïque	Oxicam	
	Méloxicam	Inhibiteur préférentiel ou modérément spécifique de COX-2

1.5.1.3. Les dérivés de l'acide salicylique

Les dérivés de l'acide salicylique, incluant l'aspirine (acide acétylsalicylique) et le salicylate de sodium ont été les tous premiers AINS utilisés dans la médecine moderne. Leur utilisation chez les animaux de rente repose essentiellement sur leurs propriétés antipyrétiques lors de pneumonie chez les jeunes bovins ; leur administration par voie orale en faisant un traitement AINS pratique, à faible coût (Coetzee, 2013). Son utilisation dans la gestion médicale des mammites cliniques est inexistante, les modalités d'utilisation de cette molécule ne se prêtant pas à une utilisation individuelle chez les bovins.

1.5.1.4. La dipyron

La dipyron est un anti-inflammatoire non stéroïdien de la classe des pyrazolés. Cette molécule, outre ses propriétés analgésiques et antipyrétiques, est également antispasmodique, ce qui en fait une molécule utilisable lors de douleur viscérale chez le bovin (Smith *et al.*, 2008). Son utilisation en tant qu'antalgique et anti-inflammatoire est souvent moindre que son utilisation en tant qu'antispasmodique chez les ruminants.

1.5.1.5. La flunixin

La flunixin est une molécule dérivée de l'acide nicotinique (Coetzee, 2013). Sa demi-vie lors d'administration intraveineuse est comprise entre trois et huit heures, nécessitant classiquement une administration quotidienne tant qu'un effet anti-inflammatoire est recherché. L'indication de l'utilisation de la flunixin lors de mammité porte essentiellement sur le traitement des mammites de grade 3 (Coetzee, 2013).

1.5.1.6. L'acide tolfénamique

L'acide tolfénamique est un AINS de la classe de l'acide anthracilique. Sa demi-vie lors d'administration intraveineuse est de huit à dix heures, permettant une concentration plasmatique efficace pendant au moins 48 heures (Smith *et al.*, 2008).

1.5.1.7. Le kétoprofène

Le kétoprofène est, comme le carprofène, un AINS de la classe de l'acide propionique. Le kétoprofène présente une demi-vie plasmatique de courte durée chez le bovin adulte (Coetzee, 2013) et est éliminé rapidement dans les urines après administration (près de 80 % d'une dose dans les 24 heures suivant l'administration). Le kétoprofène est, selon les auteurs, un inhibiteur préférentiel de la COX-1 ou non spécifique de COX (Lees, 2009). Cet AINS présente une indication pour le traitement des mammites de grade 3 chez les ruminants (Coetzee, 2013).

1.5.1.8. Le carprofène

Le carprofène est également un AINS de la classe de l'acide propionique. Ses propriétés anti-inflammatoires se rapprochent de celles du kétoprofène. Néanmoins sa demi-vie est chez le bovin adulte beaucoup plus longue que celle du kétoprofène ($30,7 \pm 2,3$ heures vs. 0,42 heures) (Coetzee, 2013). Le carprofène dispose également d'une indication pour le traitement anti-inflammatoire lors de mammites de grade élevé chez la vache laitière (Coetzee, 2013).

1.5.1.9. Le méloxicam

Le méloxicam est un AINS de la classe des oxicam approuvé en Europe comme traitement adjuvant lors de pneumonie, de diarrhée ou de mammites aiguës (Coetzee, 2013). Par ailleurs, c'est le seul AINS chez les bovins bénéficiant en France d'une indication pour le soulagement de la douleur post-opératoire (écorchage des veaux). Cet AINS présente un spectre d'activité plus orienté vers une inhibition de COX-2 même s'il ne s'agit pas d'un AINS spécifique uniquement de cette cyclooxygénase. Cet AINS est souvent réputé sur le terrain comme ayant une bonne action analgésique en plus de ses propriétés anti-inflammatoires. Plusieurs études ont ainsi montré les propriétés analgésiques marquées de cette molécule lors d'utilisation lors d'écorchage (Heinrich *et al.*, 2009, 2010) ou lors de castration chez le jeune bovin (Brown *et al.*, 2015 ; Olson *et al.*, 2016 ; Repenning *et al.*, 2013) mais aussi lors de césarienne chez la vache allaitante (Lesort, 2014).

1.5.2. Effet d'un traitement AINS lors de mammites cliniques induites expérimentalement

L'utilisation d'AINS chez des vaches éprouvées par instillation intramammaire de LPS (permettant de mimer une mammites de grade 3) est associée à une diminution de la température rectale, une diminution des signes d'inflammation mammaire, une diminution de la fréquence cardiaque et une amélioration de la motilité ruminale par rapport à des vaches éprouvées mais non traitées (Anderson *et al.*, 1986 ; Li et Wagner, 1983 ; Zimov *et al.*, 2011). La diminution de la fréquence cardiaque, dans un contexte où la volémie apparaît normale (absence de déshydratation) peut être interprétée comme une conséquence d'une diminution de la douleur.

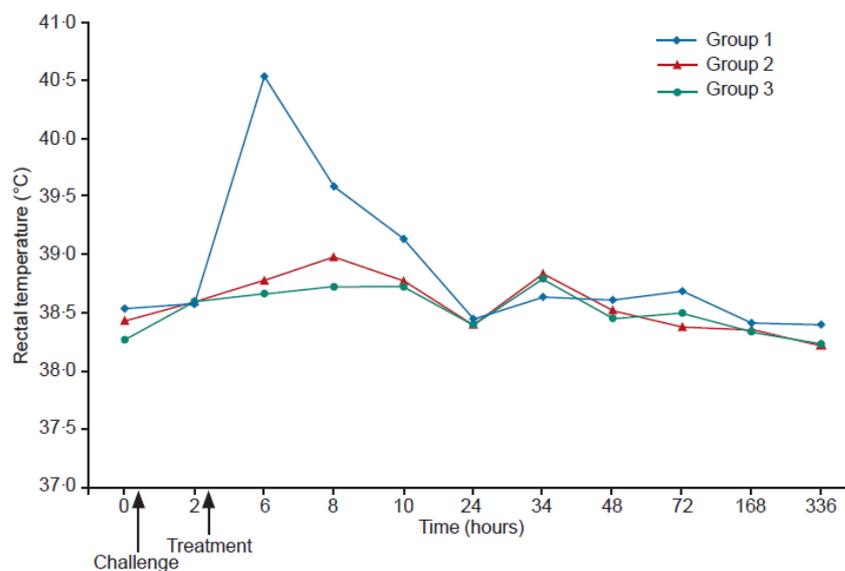
Une étude s'est attachée à évaluer les effets de l'administration de kétoprofène dans le traitement d'une mammites clinique induite expérimentalement par instillation de LPS (Banting *et al.*, 2008). Trois lots étaient constitués : deux lots pour lesquels une mammites était expérimentalement induite (un lot traité par la suite au kétoprofène ; un lot non traité) et un lot témoin, chez qui une mammites était également induite expérimentalement mais ne recevant aucun traitement anti-inflammatoire. Les animaux traités recevaient le traitement AINS deux heures après l'administration de l'endotoxine. Le traitement anti-inflammatoire non stéroïdien conduisait à une température rectale significativement plus basse chez les animaux traités par rapport aux animaux non traités (Figure 7). Aucune différence n'était observée selon la voie d'administration de l'anti-inflammatoire.

De même, le traitement anti-inflammatoire était associé à une diminution du gonflement de la mamelle et à une augmentation des contractions ruminales chez les animaux traités par rapport au lot témoin, et à une diminution significative des concentrations en thromboxane B2 dans le lait (Figure 8) et dans le plasma (Figure 9) (Banting *et al.*, 2008). La récupération clinique était plus rapide chez les animaux traités (récupération complète en 24 heures) par rapport à ceux non traités (pas de récupération clinique avant sept jours post inoculation).

De la même manière, plusieurs équipes ont étudié l'effet d'un traitement AINS lors de mammites induites par administration intramammaire d'*E. coli*. La récupération clinique est également plus rapide lorsqu'un traitement anti-inflammatoire est réalisé avant l'apparition des symptômes cliniques, et ce quel que soit l'anti-inflammatoire, stéroïdien ou non stéroïdien (méloxicam, carprofène, kétoprofène) (Fitzpatrick *et al.*, 2013 ; Lohuis *et al.*, 1989a, 1989b ; Odensvik et Magnusson, 1996 ; Vangroenweghe *et al.*, 2005). Les effets décrits précédemment (impact sur l'inflammation mammaire et sur la température rectale) étaient également retrouvés dans ces études.

Néanmoins certaines limites de ces études concernent le type de mammite, induites expérimentalement, et le fait que le traitement anti-inflammatoire était réalisé avant le début des symptômes, ne permettant pas d'extrapoler ces résultats aux mammites rencontrées sur le terrain.

Figure 7 : Température rectale moyenne observée chez différents groupes d'animaux présentant une mammite induite expérimentalement (d'après Banting *et al.*, 2008).



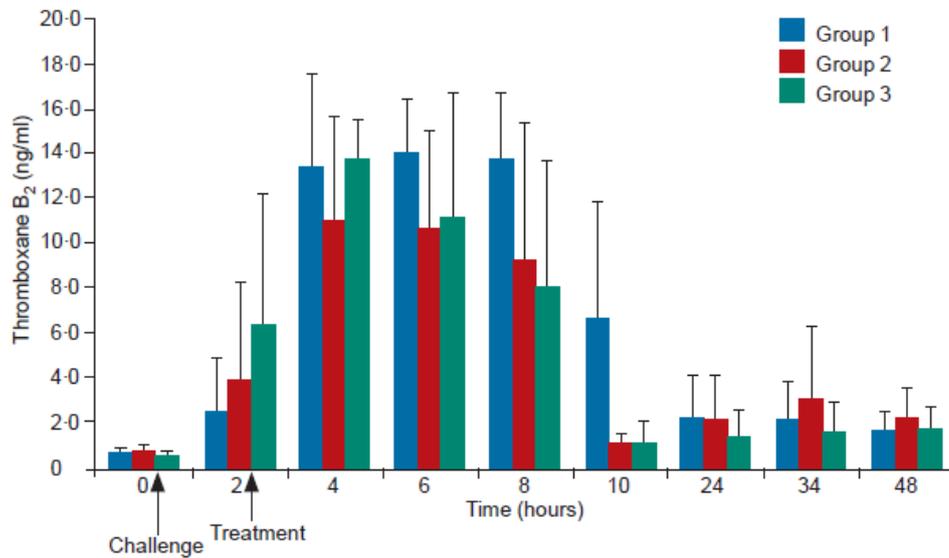
Groupe 1 : groupe témoin (pas de traitement AINS) ; groupe 2 : groupe traité par voie orale, 4 mg/kg de kétoprofène ; groupe 3 : groupe traité par voie intramusculaire, 3 mg/kg de kétoprofène.

1.5.3. Effet d'un traitement AINS lors de mammite clinique survenant naturellement

L'effet d'un traitement AINS lors de la prise en charge médicale de mammites survenant sur le terrain n'a malheureusement pas fait l'objet de nombreuses publications. Que la mammite survienne suite à une inoculation expérimentale ou suite à une infection naturelle, une inflammation locale (conduisant à une élévation des concentrations en cellules somatiques dans le lait), un gonflement de la mamelle, une élévation de la température, une diminution de la production laitière et une élévation des concentrations en TNF- α sont régulièrement observés. Il est ainsi possible d'envisager qu'un traitement AINS puisse avoir également un impact positif lors de mammites cliniques non-expérimentales. Dans une première étude, l'effet de l'administration d'un traitement AINS par voie intraveineuse en association au traitement antibiotique a été étudié lors de mammite de grade 3 : aucun impact sur la température rectale, sur le niveau de production laitière et sur le taux de rechute n'a été observé entre les animaux recevant ou ne recevant pas d'AINS (Leslie et Petersson-Wolfe, 2012). Un essai Israélien, utilisant le kétoprofène comme AINS, a quant à lui montré que le retour en lactation de vaches atteintes de mammite de grade 3 était plus fréquent chez les animaux recevant un AINS en plus du traitement de la mammite (93,5 % de retour en

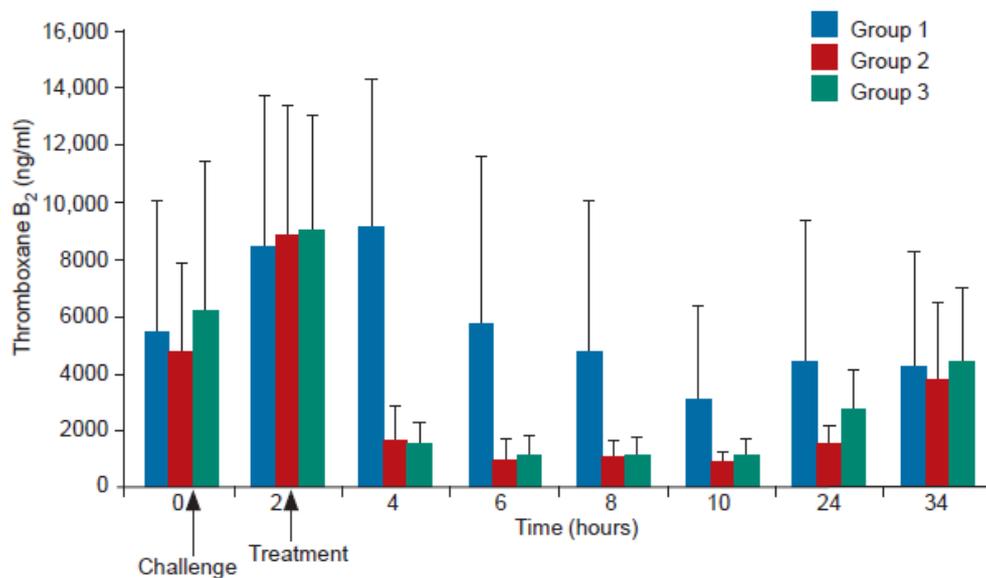
production) que chez les animaux recevant le placebo (78,4 %) (Shpigel *et al.*, 1994). Le taux de réforme était également plus faible chez les animaux recevant du kétoprofène (3 % contre 22 %).

Figure 8 : Concentration moyenne (avec écart type) en thromboxane B2 dans le lait chez des animaux non traité (groupe 1) ou recevant un traitement à base de kétoprofène (groupes 2 et 3) à différents intervalles après challenge intramammaire avec l'endotoxine de *E. coli* (d'après Banting *et al.*, 2008).



Groupe 1 : groupe témoin (pas de traitement AINS) ; groupe 2 : groupe traité par voie orale, 4 mg/kg de kétoprofène ; groupe 3 : groupe traité par voie intramusculaire, 3 mg/kg de kétoprofène.

Figure 9 : Concentration moyenne (avec écart type) en thromboxane B2 dans le plasma chez des animaux non traité (groupe 1) ou recevant un traitement à base de kétoprofène (groupes 2 et 3) à différents intervalles après challenge intramammaire avec l'endotoxine de *E. coli* (d'après Banting *et al.*, 2008).



Groupe 1 : groupe témoin (pas de traitement AINS) ; groupe 2 : groupe traité par voie orale, 4 mg/kg de kétoprofène ; groupe 3 : groupe traité par voie intramusculaire, 3 mg/kg de kétoprofène.

Une autre étude a évalué l'effet de l'administration intraveineuse de flunixin méglumine à des vaches présentant une mammite clinique, l'objectif étant de déterminer si de la douleur était présente lors de mammite et si un traitement AINS permet de gérer cette douleur (Fitzpatrick *et al.*, 1998). Des vaches présentant une mammite de grade 1 ou 2 recevaient un anti-inflammatoire par voie intramammaire ou par voie intraveineuse. La douleur était mise en évidence par un dispositif exerçant une pression sur les membres postérieurs des animaux. Dans cette étude, les animaux atteints d'une mammite de grade 1 présentaient une diminution de la sensibilité à la pression lorsqu'un traitement AINS par voie intraveineuse était réalisé. Cet effet bénéfique n'était pas retrouvé lors de traitement AINS dans les cas de grade 2 (Fitzpatrick *et al.*, 1998), les auteurs suspectant que la posologie de l'anti-inflammatoire (2,2 mg/kg) était insuffisante pour permettre une analgésie, même si cette posologie était conforme à la dose AMM de la flunixin méglumine. D'autre part cette action antalgique était de courte durée, laissant supposer qu'un traitement de plusieurs jours était nécessaire.

Un essai terrain réalisée en Nouvelle Zélande a étudié l'effet de l'administration d'un traitement AINS à base de méloxicam en complément d'un traitement antibiotique lors de cas de mammite clinique de grade 1 et 2. Les effets de ce traitement sur le comptage cellulaire, le niveau de perte de production, le devenir clinique et le taux de réforme a été étudié en comparaison aux effets liés à un traitement antibiotique seul (McDougall *et al.*, 2009). Les vaches atteintes de mammite clinique recevaient ainsi cinq grammes de pénéthamate iohydrate par voie intramusculaire pendant trois jours (une fois par jour) après la détection de l'affection ; la moitié des vaches recevaient également 250 mg de méloxicam (lot traité) alors que la seconde moitié, représentant le lot contrôle, recevaient une injection de placebo. Au bilan aucune différence n'a été observée entre les groupes sur le nombre de vaches ayant été défini comme en échec de traitement (c'est-à-dire devant être traitée dans les 24 jours suivant le traitement initial, mourant ou présentant une chute sévère de production) ou sur le niveau de production laitière après traitement. Cependant la concentration en cellules somatiques individuelles était plus faible dans le lot recevant le traitement AINS par rapport au lot témoin après traitement ($550\ 000 \pm 48\ 000/\text{mL}$ vs $771\ 000 \pm 62\ \text{mL}$, $P = 0,001$) et le taux de réforme était plus faible chez les animaux recevant du méloxicam lors du traitement de la mammite (16,4 % vs 28,2%, $P < 0,001$) (Figure 10). Le traitement des mammites de faible grade à l'aide de méloxicam en complément du traitement antibiotique permettrait de réduire la valeur du comptage cellulaire individuel et de limiter le risque de sortie du troupeau par rapport à un traitement antibiotique seul.

1.5.4. Effet d'un traitement glucocorticoïde lors de mammite clinique

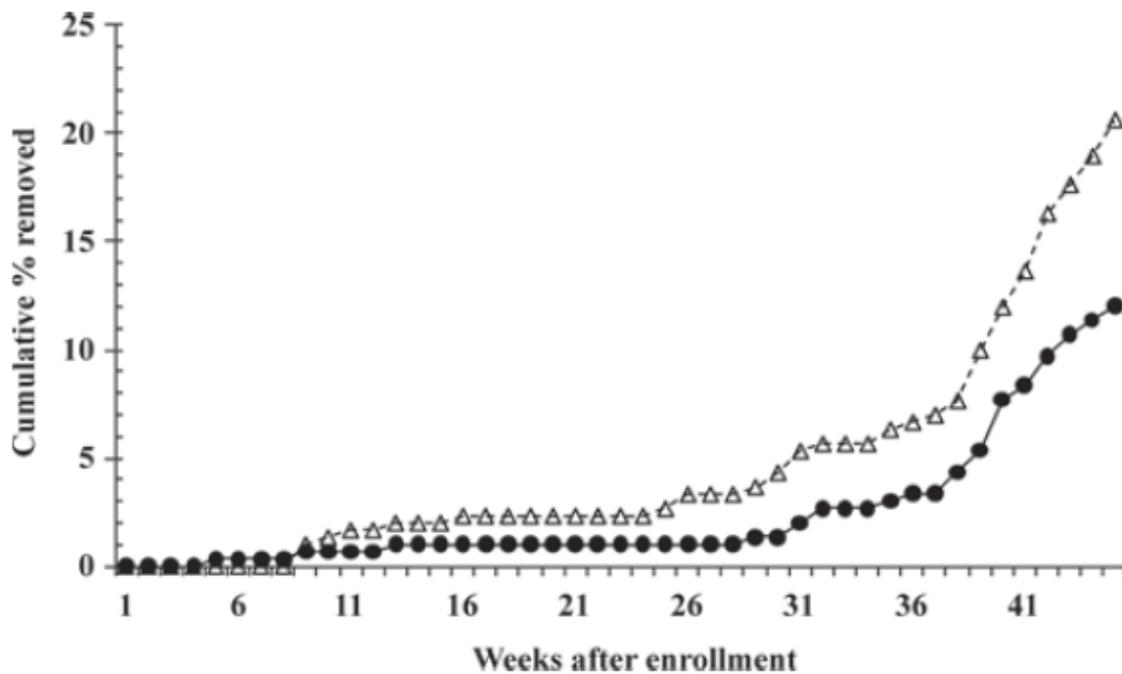
Peu de données sont disponibles quant aux effets des anti-inflammatoires stéroïdiens lors de mammites bovines. Les effets de l'adjonction de molécules comme la dexaméthasone et l'isofluprédone ont été étudiés dans le cas de mammites induites expérimentalement (Lohuis *et al.*, 1989a ; Ziv *et al.*, 1998). Dans ces études, le traitement était administré avant l'apparition des signes cliniques : une diminution de la sévérité des signes cliniques était alors observée. De la même manière, Anderson et Hunt ont comparé les effets de la flunixin méglumine et de la dexaméthasone dans le cas de mammites de grade 3 induites par instillation intramammaire d'endotoxines : les deux traitements, en comparaison du traitement placebo, étaient associés à une diminution de la température rectale et de la chaleur de la mamelle (Anderson et Hunt, 1989). Les animaux traités à la dexaméthasone présentaient néanmoins une diminution significative du niveau de production laitière par rapport aux animaux traités avec les AINS.

Une étude récente, comparant les effets de la flunixin méglumine et de l'acétate d'isofluprédone dans le cadre de mammites endotoxiques induites expérimentalement n'a pas

montré d'effet de l'anti-inflammatoire stéroïdien sur la diminution de la température rectale ni sur la récupération en termes de production laitière (Wagner et Apley, 2004).

A l'heure actuelle, l'efficacité des glucocorticoïdes dans le cadre du traitement des mammites n'a pas été publiée (Roberson, 2012)

Figure 10 : Pourcentage cumulé des vaches atteintes de mammite clinique, traitées avec du pénéthamate et du méloxicam (groupe traité) ou l'excipient (groupe témoin), réformées durant les 45 semaines suivant l'inclusion dans l'étude (d'après McDougall *et al.*, 2009)



Légende : cercle noir : vaches traitées avec le méloxicam
 Triangle blanc : vaches recevant l'excipient

2. Généralités sur la reproduction de la vache laitière

L'économie des élevages de vaches laitières dépend largement de la reproduction des femelles, et tout particulièrement de la fécondité et de la fertilité du troupeau. La reproduction permet en effet d'assurer la production laitière mais permet également d'assurer la pérennité de l'élevage en permettant le renouvellement des animaux producteurs et d'assurer une longévité des vaches, source de rentabilité de l'atelier laitier. En quelques chiffres : l'infertilité est la première cause de réforme de la vache laitière française, les mammites étant la seconde cause (avec respectivement 24 % et 19 % des cas de réformes) (Chastant-Maillard, 2016). Un lien entre ces deux troubles est suspecté depuis de nombreuses années. Ce chapitre, après avoir présenté des rappels sur la physiologie de la reproduction de la vache laitière et sur les paramètres de description de la fécondité et de la fertilité, permettra de poser les bases nécessaires à la compréhension par la suite des différents effets des mammites sur la reproduction bovine.

2.1. Physiologie de la reproduction

La vache présente une activité sexuelle continue durant l'année. La durée de son cycle est en moyenne de 21 ± 2 jours chez la femelle multipare et de 20 jours chez la génisse (Ennuyer, 2000).

2.1.1. Le cycle œstral de la vache

2.1.1.1. Régulation hormonale du cycle

Le cycle œstral est finement régulé chez le bovin femelle. Sa régulation fait intervenir différents organes (le complexe hypothalamo-hypophysaire, les ovaires et l'utérus) par l'intermédiaire de différentes hormones.

Le cycle de la vache est la période comprise entre deux ovulations. Suite à cette dernière, un corps jaune se forme à partir du follicule ayant ovulé par lutéinisation de la structure folliculaire résiduelle. Ce corps jaune produit de la progestérone, hormone qui exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus qui bloque toute nouvelle ovulation, tant que le corps jaune reste productif.

L'hypothalamus permet, par l'intermédiaire de la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone, ou gonadolibérine), de stimuler la libération par l'hypophyse de la FSH (Follicle Stimulating Hormone) et de la LH (Luteinizing Hormone), hormones qui interviennent le développement, la croissance et la maturation folliculaire (on parle chez les ruminants de vagues folliculaires). Tant que la progestéronémie reste élevée, le follicule dominant issu de chaque vague folliculaire subi l'atrésie et une nouvelle folliculaire est initiée. En fin de cycle œstral, la prostaglandine F2 α (PGF2 α) produite par les cellules endométriales provoque la régression du corps jaune (lutéolyse) avec pour conséquence directe une chute rapide de la progestéronémie. La levée du rétrocontrôle exercée par la progestérone autorise alors le follicule dominant de la vague folliculaire en cours à poursuivre sa croissance. Or, les follicules ovariens sécrètent des œstrogènes qui exercent, à partir d'un certain seuil, un rétrocontrôle positif au niveau du complexe hypothalamo-hypophysaire. Ce rétrocontrôle positif (médié par les œstrogènes), combiné à la levée du rétrocontrôle négatif (médié par la progestérone) conduit à la libération massive de GnRH et, consécutivement, à l'émergence d'un pic de LH à l'origine de l'ovulation du follicule dominant et de la formation d'un nouveau corps jaune. (Picard-Hagen *et al.*, 2005).

2.1.1.2. L'ovogénèse

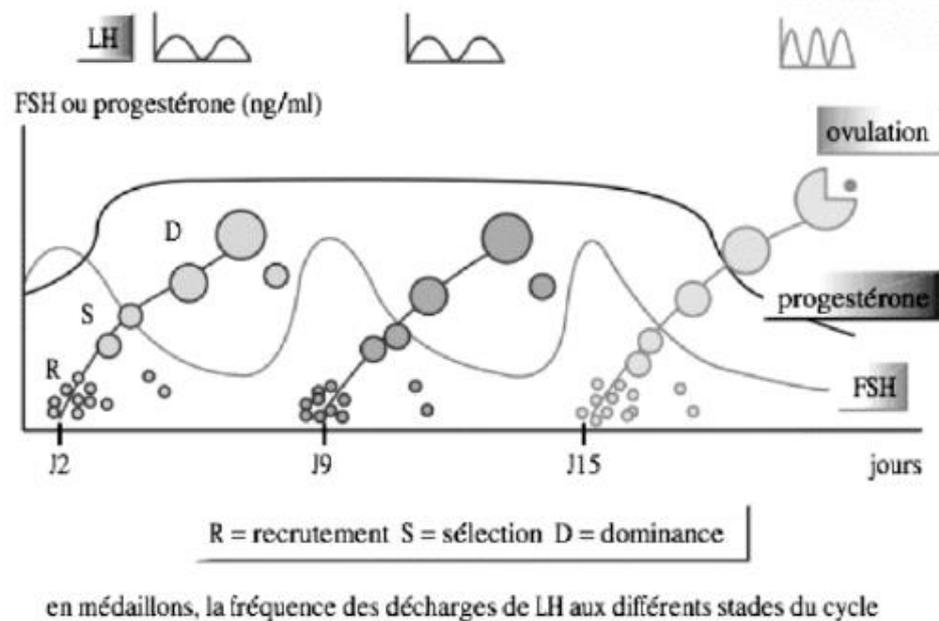
Le processus de développement de l'ovocyte à partir de l'ovogonie est appelée ovogénèse, et implique plusieurs étapes dont une phase de croissance et une phase de maturation incluant la folliculogénèse qui en constitue la dernière étape. L'étape d'ovocytogenèse, c'est-à-dire la transformation des ovogonies en ovocytes primordiaux, débute durant le développement embryonnaire et s'arrête à la prophase I de la méiose, avant la naissance chez les bovins. Les ovocytes sont alors des ovocytes I et sont entourés de cellules folliculaires. Ce stock d'ovocytes primaires reste à ce stade jusqu'à la puberté, où un petit nombre d'ovocytes sont recrutés dans le groupe de croissance et deviennent des ovocytes secondaires. Ce processus implique la reprise de la première division méiotique et une expulsion du premier corps polaire avec une entrée immédiate dans la seconde division méiotique. Cette division s'arrête en métaphase jusqu'à ce que la fécondation arrive et que le second corps polaire soit expulsé (Rahman, 2009).

2.1.1.3. La folliculogénèse et la croissance folliculaire

La folliculogénèse correspond aux différentes étapes du développement du follicule depuis sa sortie de la réserve (constituée durant le développement embryonnaire) jusqu'à sa rupture au moment de l'ovulation, ou de son atrophie. Ce phénomène est un phénomène continu. La folliculogénèse se déroule en deux grandes phases : une phase à croissance continue, non gonado-dépendante ; et une phase à caractère cyclique, gonado-dépendante.

La phase non gonado-dépendante est marquée par la transformation du follicule primordial d'environ 30 μm en follicule antral de quelques millimètres de diamètre. Le follicule passe successivement par les stades follicules primaires (40 μm), secondaire (0,1 mm), pré-antral (0,1-0,2 mm) puis tertiaire. Seul ce dernier pourra être intégré à une vague folliculaire (Figure 11). C'est au cours de cette étape que les follicules acquièrent les récepteurs à la LH (pour les cellules de la thèque interne) et les récepteurs à la FSH (pour les cellules de la granulosa) qui les rendra potentiellement capables de répondre à la stimulation de l'axe gonadotrope (Ennuyer, 2000; Fieni *et al.*, 1995).

Figure 11 : Croissance folliculaire par vague au cours du cycle œstral chez la vache (J₀ = jour d'ovulation) (d'après (Ennuyer, 2000))



La phase gonado-dépendante est marquée par la transformation du follicule tertiaire en follicule pré-ovulatoire, de 20 mm de diamètre. Cette phase ne concerne qu'un follicule sur 1 000 qui sera entré en croissance, les autres follicules subissant une atrophie avant d'arriver à ce stade. La croissance gonado-dépendante se déroule sous forme de vagues chez la vache, l'évolution se faisant par succession de croissances et de régressions synchrones de plusieurs follicules. Un cycle ne comporte la plupart du temps que deux ou trois vagues folliculaires, le follicule pré-ovulatoire étant issu de la dernière vague (Diskin *et al.*, 2003 ; Ennuyer, 2000). Chaque vague de croissance folliculaire dure en moyenne six à dix jours chez la vache (dix s'il n'y a que deux vagues par cycle ; six si trois vagues). Chaque vague comporte plusieurs étapes : le recrutement, la sélection, la dominance puis l'ovulation ou l'atrophie.

- **Phase de recrutement**

La phase de recrutement ne concerne que des follicules ayant atteint une taille suffisante, de l'ordre de deux à trois mm (Mialot *et al.*, 2001), lorsque celui-ci est capable de répondre à la stimulation par les gonadotropines (Ennuyer, 2000). La liaison de la FSH aux récepteurs des cellules de la granulosa conduit à une synthèse d'œstrogènes par les cellules de la thèque et à l'apparition des récepteurs à la LH sur ces mêmes cellules (Ennuyer, 2000). Les œstrogènes produits stimulent la multiplication des cellules de la granulosa, conduisent à la croissance du follicule et au développement de la cavité antrale remplie de liquide folliculaire et stimulent également la sécrétion de la GnRH.

- **Phase de sélection et de dominance**

Lors de la phase de sélection, l'augmentation de la fréquence des pulses de LH est à l'origine d'une stimulation de la production d'œstradiol et d'inhibine par les cellules de la granulosa des follicules de grande taille (Ennuyer, 2000). Ces deux hormones conduisent à une réduction

progressive de la sécrétion de FSH, cette dernière étant responsable de la sélection. A ce stade, la croissance des follicules non sélectionnés s'arrête et ceux-ci évoluent vers l'atrésie. Parmi les follicules de plus grande taille, un follicule, qui sera le follicule dominant et qui est le follicule de plus gros diamètre, acquiert suffisamment de récepteurs à la LH pour lui permettre de subsister en dépit de la diminution de la concentration en FSH. Ce follicule dominant continue à produire de grandes quantités d'œstrogènes et continue à croître en raison essentiellement d'une augmentation de sa propre sensibilité à la FSH et à la LH, mais aussi par production de facteurs locaux (Ennuyer, 2000).

- **Evolution du follicule dominant**

La LH permet la maturation du follicule dominant. Le devenir de celui-ci dépend de l'amplitude des pulses de LH, eux même dépendants de la GnRH. Plusieurs cas de figures sont possibles :

- Lorsqu'un corps jaune est présent, la progestérone synthétisée exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus. Les pulses de LH, espacés de trois à quatre heures, conduisent à une perte de dominance puis à une atrésie du follicule dominant (Chastant-Maillard *et al.*, 2005). Cette vague folliculaire, non ovulatoire, est alors suivie d'une nouvelle vague folliculaire (Chastant-Maillard *et al.*, 2005).
- Si le corps jaune est lysé, la chute de la progestéronémie conduit à une levée de l'inhibition de la production de GnRH. Le rythme des pulses de LH est plus élevé (une toutes les heures) et conduit à l'ovulation (Ennuyer, 2000).
- Enfin lors de défaut d'ovulation ou d'atrésie du follicule dominant, celui-ci peut conduire à la formation d'un kyste ovarien. En effet, la fréquence des pulses de LH peut être insuffisante pour permettre l'ovulation mais peut conduire au maintien du follicule dominant et à la production d'œstrogènes et au final à l'émergence d'un kyste folliculaire (Fieni *et al.*, 1995).

2.1.1.4. La phase lutéale

Une fois le follicule rompu durant l'ovulation, des remaniements cytologiques et biochimiques conduisent à la formation du corps jaune. Celui-ci contient de grandes cellules issues de la granulosa et des petites provenant de la thèque interne. Ces deux types de cellules sécrètent de la progestérone (Ennuyer, 2000). Le corps jaune évolue durant le cycle œstral, cette évolution se réalisant en trois temps (Fieni *et al.*, 1995) : durant les quatre à cinq jours suivant l'ovulation, le corps jaune croît et est insensible aux prostaglandines ; puis durant huit à dix jours se situe une phase de maintien d'activité (le corps jaune est alors d'un diamètre minimal de 20 mm) ; enfin en l'absence de fécondation, la production de PGF2 α par l'endomètre conduit à la lutéolyse, observable à partir du 16^{ème}-17^{ème} jour du cycle et conduit à la formation d'un reliquat ovarien, le corps blanc.

En fin de phase lutéale, seules les petites cellules continuent la production de progestérone : les cellules de grande taille produisent de l'ocytocine qui, en se fixant à ces récepteurs utérins, conduit à la synthèse puis la libération de prostaglandines (Ennuyer, 2000).

2.1.2. Cas de la physiologie de la reproduction en post-partum chez la vache laitière

Une particularité est rencontrée chez les vaches, tant laitières qu'allaitantes, après le vêlage : dans l'espèce bovine une période d'inactivité ovarienne est observée après la mise-bas. Il s'agit de l'anœstrus post-partum, période se caractérisant par une absence de manifestations de chaleurs.

Les concentrations en œstrogènes et en progestérone d'origine placentaire sont à l'origine, avant le vêlage, d'un fort rétrocontrôle négatif exercé sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Ce rétrocontrôle conduit à une moindre activité ovarienne (Grimard et Disenhaus, 2005). Différents types d'anœstrus sont différenciés : on différencie l'anœstrus vrai qui se caractérise par une absence d'activité ovarienne et d'ovulation, du subœstrus qui se caractérise par une reprise de la cyclicité mais d'une absence de détection des chaleurs par l'éleveur. L'anœstrus vrai est assez rare, la reprise de l'activité ovarienne étant rapide après le vêlage (la première ovulation survenant généralement chez les vaches laitières 15 à 31 jours après le vêlage) (Grimard et Disenhaus, 2005).

Comme évoqué précédemment, les concentrations en œstrogènes et progestérone élevées en fin de gestation induisent un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Suite au vêlage, la diminution de la concentration de ces hormones conduit à une levée de ce rétrocontrôle et à une reprise de la sécrétion de GnRH (Thibault et Lévasseur, 2001). La GnRH conduit à une stimulation de la libération de FSH (permettant de stimuler la croissance folliculaire rapidement après le vêlage) et de la LH. Cependant après le vêlage la fréquence des pics de LH est faible, conduisant à une faible production d'œstradiol par le follicule et à l'atrésie de celui-ci (Grimard et Disenhaus, 2005). Par conséquent le facteur impactant le plus la reprise de l'activité ovarienne est la fréquence des pulses de LH en post-partum (Peters et Lamming, 1986).

Immédiatement après le vêlage, l'augmentation de la sécrétion de la FSH conduit à l'apparition d'une cohorte de follicules à l'origine de la formation du premier follicule dominant entre le 5^{ème} et le 39^{ème} jour après le vêlage (Savio *et al.*, 1990). Selon la fréquence de la décharge de LH, l'ovulation peut (en cas de fréquence élevée) avoir ou ne pas avoir lieu (Mialot *et al.*, 2001). L'ovulation a lieu dans près de 75 % des cas, alors que le follicule peut évoluer vers un kyste dans 20 % des cas ou vers l'atrésie dans 5 % des cas (Mialot *et al.*, 2001). Lorsque la première ovulation survient, celle-ci n'est généralement pas associée à des manifestations de chaleurs. La phase lutéale faisant suite à cette première ovulation est souvent courte (4 à 13 jours) (Grimard et Disenhaus, 2005) même s'il peut arriver, de manière anormale, d'observer une phase lutéale prolongée : on parle alors de corps jaune persistant. La reprise d'une cyclicité normale semblerait nécessiter une imprégnation lutéale préalable de quelques jours : les phases lutéales prolongées pourraient conduire à une reprise tardive de cyclicité (Grimard et Disenhaus, 2005).

De nombreux facteurs semblent influencer la durée de l'anœstrus post-partum, or la maîtrise de celui-ci est primordiale afin de permettre la maîtrise de la fertilité de la vache et permettre une gestion économique de la production. De manière synthétique, les principaux facteurs influençant la durée de l'anœstrus post-partum sont :

- **L'alimentation** : l'excès énergétique durant le tarissement et le déficit énergétique du début de lactation, à l'origine de cétose (clinique ou subclinique) représentent les principaux facteurs conduisant à un allongement de l'anœstrus post-partum. Le déficit énergétique conduit à une moindre sécrétion de GnRH et de LH mais pas de la FSH (Diskin *et al.*, 2003), conduisant à des défauts de croissance et de maturation du follicule dominant et de son ovulation (Butler, 2000).
- **La parité** : l'intervalle entre le vêlage et la première ovulation est classiquement plus allongé chez les femelles primipares que chez les multipares.

- **Les conditions de vêlage :** l'anœstrus post-partum est plus long lorsque les conditions de vêlage ont été dégradées (dystocie, césarienne, intervention manuelle, etc.).
- **La production laitière :** le niveau de production laitière est corrélé avec la longueur de l'anœstrus post-partum, probablement secondaire au déficit énergétique plus élevé chez les vaches produisant le plus (Opsomer *et al.*, 2000)
- **Les affections du post-partum :** la plupart des affections du post-partum (endométrite, fièvre vitulaire, déplacement de caillette) semblent être associées à une augmentation de l'anœstrus post-partum, vraisemblablement en amplifiant le déficit énergétique en affectant la prise alimentaire (Opsomer *et al.*, 2000)
- **Les facteurs environnementaux :** la saison et le type de stabulation jouent également un rôle sur la durée entre le vêlage et la reprise de la cyclicité. Les vaches laitières vêlant au printemps retrouvent une cyclicité normale 1,2 fois plus tardivement que celles vêlant en automne (Darwash *et al.*, 1997).

2.1.3. La fécondation et la vie libre de l'embryon

La fécondation s'accomplit en moyenne 24 heures après l'insémination à la jonction de l'ampoule et de l'isthme de l'oviducte (Barre, 1992). Le spermatozoïde pénètre dans l'ovocyte, conduisant à l'expulsion du second globule polaire. Environ 30 heures après la fécondation se forment les deux premiers blastomères. Cette étape est considérée comme critique pour le bon développement ultérieur de l'embryon (Poll, 2007). La lecture du génome embryonnaire se produit au stade 8-16 cellules chez la vache : tout retard à la mise en route de la lecture du génome embryonnaire peut conduire à un risque élevé de mortalité de l'embryon (Guélou, 2010). La poursuite des divisions cellulaires conduisent à la formation d'une morula (stade 32-64 cellules) trois à quatre jours après la fécondation : la morula est désormais présente dans l'utérus, l'embryon y pénétrant trois jours après la fécondation (Barre, 1992).

Cinq à six jours après la fécondation se déroule le phénomène de compaction qui aboutit d'une part à la formation d'une cavité blastocœlique et d'autre part à l'expansion du blastocyste. Les divisions suivantes deviennent asynchrones et conduisent à la formation d'une population cellulaire de petite taille (le bouton embryonnaire) et d'une autre population de grande taille (le trophoblaste). Le blastocyste, constitué d'une centaine de cellules entourées par la zone pellucide, augmente de taille par accumulation de liquide. La zone pellucide s'amincit puis rond, permettant l'éclosion du blastocyste neuf à dix jours après fécondation. Suite à l'éclosion, la phase d'élongation débute environ 12 à 14 jours après la fécondation.

Chez les ruminants, la phase de vie libre est relativement longue, le rendant sensible au milieu l'environnant (sécrétions utérines notamment).

2.1.4. L'implantation

La phase d'adhésion débute dès le 20^{ème} jour post fécondation par les premiers contacts entre l'embryon et l'épithélium caronculaire (King *et al.*, 1980). Cette interaction entre le trophoblaste et l'utérus conduit à la formation des structures placentaires, et se déroule en plusieurs étapes : dans un premier temps, l'orientation et l'accolement du blastocyste à l'endomètre, suivis

d'une apposition et de l'adhésion. L'ancrage définitif se fait par la mise en place d'un système d'interpénétration des microvillosités utérine et des cellules trophoblastiques. Le placenta se forme tout d'abord dans la région de l'embryon puis s'étend vers chaque extrémité du blastocyste (King *et al.*, 1980). Le développement embryonnaire se poursuit par la formation des vésicules optiques vers le 22^{ème} jour, et des bourgeons des membres à partir du 24^{ème} jour post fécondation. La période dite foetale débute vers le 43^{ème} jour post fécondation chez la vache et correspond à la fin de l'organogenèse.

2.1.5. La gestation

La gestation chez le bovin est d'une durée moyenne de 280 jours (avec des variations selon les races). Les mécanismes impliqués dans la tolérance immunitaire de la mère vis-à-vis du fœtus et ceux conduisant au développement de l'embryon en fœtus puis en veau sont complexes et ne font pas l'objet de ce travail. Seules seront abordées les cytokines associées à la gestation, ce qui favorisera la compréhension de la troisième partie de ce travail.

Certaines cytokines interviennent durant l'implantation sur le développement du blastocyste et dans le dialogue moléculaire entre l'embryon et le myomètre : c'est le cas notamment d'IL-1, LIF (Leukemia inhibitory factor) et CSF-I (Colony Stimulating Factor) (Thibault et Levasseur, 2001). Au contraire, certaines cytokines sont abortives : cet effet peut être rencontré dès l'implantation ou durant la gestation. Les cytokines Th1 ou Th1 like (comme IL-12), l'interféron γ ou encore le TNF α (par ses effets vasoconstricteurs et l'induction d'une coagulation locale) peuvent ainsi conduire à un avortement (Thibault et Levasseur, 2001).

2.2. Les paramètres de reproduction évaluables chez la vache

Maitriser les performances de la reproduction est essentielle dans les troupeaux laitiers modernes. Pour cela, différents indicateurs ont été développés pour permettre l'étude des performances, ceux-ci étant compilés pour établir annuellement un bilan de reproduction. Les différents indicateurs peuvent être répartis en indices économiques et en indices d'interprétation.

Avant toute chose, et pour plus de clarté, il convient de faire la distinction entre fécondité et fertilité. La fertilité correspond à la capacité à se reproduire : elle exprime l'aptitude d'une vache à être fécondée lors de sa mise à la reproduction. La fécondité quant à elle est plus vaste et est définie comme la capacité d'une femelle à être gravide et à mener à terme sa gestation. Elle intègre par conséquent la fertilité, le développement embryonnaire et foetal et le vêlage.

2.2.1. Les principaux indices économiques

Les principaux indices économiques sont l'intervalle vêlage-vêlage (IVV), l'intervalle vêlage – insémination fécondante (IVIAF) et le taux de réforme pour infertilité. Ces paramètres permettent de déterminer si la reproduction constitue un problème économique ou non pour l'exploitation.

2.2.1.1. Intervalle vêlage-vêlage

L'IVV est un indice de la fécondité s'appliquant sur la campagne dite « N-1 », la campagne N étant celle en cours. Il s'agit d'un indice rétrospectif et tardif. De plus, il ne reflète que la campagne précédente et non l'actuelle. Enfin, par définition cet indicateur exclut les génisses et les primipares. Il s'agit par conséquent d'un indicateur beaucoup moins intéressant que l'IVIAF.

2.2.1.2. Intervalle vêlage-IA fécondante

L'IVIAF représente également un indicateur de la fécondité. Ce paramètre est également appelé « calving-conception interval » ou « days open » par les anglo-saxons.

Cet indice peut être calculé de différentes manières selon la définition choisie pour définir une IA comme fécondante. L'IA peut être jugée comme fécondante suite à un vêlage (la dernière IA devenant l'IA fécondante : l'indice sera alors tardif et uniquement rétrospectif comme peut l'être l'IVV) ; l'IA peut également être qualifiée de fécondante si aucune nouvelle insémination n'est réalisée 60 ou 90 jours après cette IA (critère retenu par les centres d'insémination : il convient cependant d'inclure alors les réformes qui pourrait modifier l'indice). Enfin l'IA peut être définie comme fécondante à la suite d'un résultat positif à un test de diagnostic de gestation.

2.2.1.3. Taux de réforme pour infertilité

Le taux de réforme partiel pour fertilité est un indicateur de la fertilité. Ce paramètre est calculé annuellement, en rapportant le nombre de vaches réformées pour infertilité par l'éleveur au nombre moyen de vaches présentes. Afin d'être fiable, ce paramètre nécessite un enregistrement exhaustif des causes de réforme (infertilité, mammite, boiterie, etc.).

2.2.1.4. Autres indices économiques

Les autres indices économiques comprennent des paramètres qui sont bien moins utilisés dans le cadre d'un bilan de reproduction. Ils n'en demeurent pas moins importants en raison de leur impact sur l'économie de l'élevage. Le premier d'entre eux est l'âge moyen au 1^{er} vêlage, calculé rétrospectivement pour les génisses ayant vêlé. L'objectif économique est généralement de 24 mois, même si certains éleveurs recherchent un vêlage plus tardif (36 mois). Le second indice économique est le pourcentage d'avortement, qui devrait être inférieur à 10 %.

2.2.2. Les indices d'interprétation

2.2.2.1. Intervalle vèlage – 1^{ère} chaleur

Ce paramètre permet de quantifier l'importance de l'anœstrus post-partum, en permettant d'identifier la rapidité de reprise de l'activité cyclique ovarienne après le vèlage. Il est cependant difficile à obtenir lors de défaut d'enregistrement des dates de chaleurs par l'éleveur. De plus en raison de biais possibles dans l'efficacité de la détection des chaleurs par l'éleveur, ce paramètre peut ne pas refléter parfaitement la durée exacte de l'anœstrus.

Cet intervalle est calculé en utilisant comme numérateur la somme des intervalles entre les premières chaleurs observées par l'éleveur et le vèlage pendant la période étudiée, et le dénominateur comprend le nombre de vaches dont les premières chaleurs ont été observées pendant la période. Un délai moyen de retour en chaleurs de 35 jours après le vèlage chez la vache laitière est souvent considéré comme normal. Lorsque ce paramètre est augmenté, il conviendra de différencier un problème d'anœstrus vrai d'un défaut de détection des chaleurs.

2.2.2.2. Intervalle vèlage – 1^{ère} IA

L'intervalle vèlage-1^{ère} IA (ou IVIA1) est un paramètre représentatif de la fécondité, nommé « waiting period » par les anglo-saxons. Il est exprimé par l'intervalle moyen entre les premières inséminations réalisées durant la période et le vèlage précédent. Cet intervalle, dont la durée considérée comme conforme aux objectifs est comprise entre 70 et 110 jours, est parfois difficile à interpréter car celui-ci peut varier en fonction de considérations liées aux vaches (retour de la cyclicité, expression des chaleurs) mais aussi liées à l'éleveur (faible détection des chaleurs, choix de décaler volontairement les 1^{ère} IA de certaines vaches hautes productrices, etc.). Enfin si des traitements d'induction des chaleurs sont réalisés, ceux-ci peuvent également influencer cet indicateur.

2.2.2.3. Taux de réussite en 1^{ère} IA

Le taux de réussite en 1^{ère} IA est un indicateur extrêmement intéressant pour estimer la fertilité des vaches. Ce paramètre nécessite d'une part d'identifier les vaches gravides (soit par leur vèlage, soit grâce à un diagnostic de gestation) et d'autre part celles gravides après une unique insémination artificielle.

Une variante consiste, en l'absence de constat de gestation, à déterminer le taux de non-retour en chaleurs (en supposant que les vaches n'ayant pas exprimées de signes de chaleurs 60 à 90 jours après la dernière insémination soient gravides). Ce taux de non-retour est souvent plus favorable que le taux de réussite en 1^{ère} IA et s'avère souvent supérieur de cinq à dix points par rapport au taux de réussite en 1^{ère} IA.

L'interprétation de ce facteur doit se faire à la lumière d'autres indices, notamment de l'IVIA1 ainsi que de l'intervalle entre deux IA successives.

2.2.2.4. Pourcentage de vaches à trois IA ou plus

Le pourcentage de vaches à trois IA ou plus (%3IA) est également un indicateur de la fertilité de la vache. Ce paramètre varie en fonction de la fertilité des bovins, mais peut également varier en fonction de la conduite d'élevage (certains éleveurs pouvant décider de ne plus réaliser d'insémination artificielle sur des vaches à plus de deux inséminations et qui les réforment ou qui utilisent un « taureau de rattrapage »). Lorsque cet indicateur est utilisé, il convient par conséquent de disposer d'informations sur la politique de l'éleveur afin de permettre une analyse exacte.

2.2.2.5. Coefficient d'utilisation des paillettes (CUP)

Cet indicateur correspond au nombre d'IA fécondantes sur le nombre d'IA réalisées : l'objectif est d'avoir un CUP inférieur à 1,3. Ce paramètre peut être impacté par de nombreux facteurs (IVIA1, détection des chaleurs, qualité ovocytaire, etc.) et est par conséquent peu informatif et moins utilisé que les autres indicateurs décrits précédemment.

Des objectifs standards ont été fixés pour les différents indicateurs de fertilité et de fécondité définis précédemment. Ces objectifs, initialement fixés dans les années 80, ont été revus en 1996 par Seegers et Malher en fonction des objectifs de l'élevage. Les objectifs proposés par Seegers et Malher sont présentés dans le Tableau 4. Ces paramètres doivent permettre à l'éleveur de se situer par rapport à la « norme » liée à ses objectifs, et fournir également au vétérinaire des valeurs permettant d'explorer les troubles de reproduction d'un élevage et favoriser le diagnostic différentiel. D'autres auteurs fournissent des objectifs et des seuils d'intervention, acceptant de la sorte que les troupeaux puissent légèrement déroger de l'objectif sans qu'un impact technico-économique ne soit jugé délétère (Tableau 5).

Tableau 4 : Objectifs pour la reproduction des vaches laitières (d'après Seegers et Malher, 1996)

Indices	Objectifs
Objectifs « classiques » (avec taux de réforme limité)	
% IVV > 365 jours	< 15 %
% IVIAF > 110 jours	< 15 %
% IVIA1 > 70 jours	< 15 %
TRIA1	> 60 %
% de vaches inséminées 3 fois et plus	< 15 %
Taux de réforme partiel pour infertilité avec : Taux de réforme	< 6 % < 27 %
Objectif acceptant un taux de réforme élevé	
% IVV > 365 jours	< 15 %
% IVIAF > 110 jours	< 15 %
% IVIA1 > 70 jours	< 25 %
TRIA1	> 50 %
% de vaches inséminées 3 fois et plus	< 20 %
Taux de réforme partiel pour infertilité avec : Taux de réforme	< 12 % < 35 %
Objectif tolérant plus de vaches à IVIAF long mais faible taux de réforme	
% IVV > 400 jours	< 15 %
% IVIAF > 110 jours	< 35 %
% IVIA1 > 70 jours	< 40 %
TRIA1	> 60 %
% de vaches inséminées 3 fois et plus	< 15 %
Taux de réforme partiel pour infertilité avec : Taux de réforme	< 5 % < 25 %

IVV : Intervalle vêlage - vêlage

IVIAF : Intervalle vêlage - insémination artificielle fécondante

IVIA1 : Intervalle vêlage - première insémination artificielle

TRIA1 : taux de réussite en première insémination artificielle

IVIA1 : Intervalle vêlage – première insémination artificielle

IVIAF : Intervalle vêlage – insémination artificielle fécondante

Tableau 5 : Objectifs pour la reproduction des vaches laitières (d'après (Hanzen, 2009))

Fertilité	Objectifs	Seuil d'intervention
TRIA1 des génisses	> 60 %	< 50 %
TRIA1 des vaches	> 45 %	< 40 %
Fécondité	Objectifs	Seuil d'intervention
IVIA1	60 jours	80 jours
IVIAF	85 jours	100 jours
IVV	365 jours	380 jours

TRIA1 : taux de réussite en première insémination artificielle
 IVIA1 : Intervalle vêlage – première insémination artificielle
 IVIAF : Intervalle vêlage – insémination artificielle fécondante

Un groupe de travail, porté par l'institut de l'élevage, nommé « Reproscope », travaille actuellement sur le développement d'un observatoire des performances de reproduction de la vache laitière et à leur adaptation au type d'élevage. Par conséquent les objectifs présentés dans ce paragraphe correspondent aux objectifs classiquement présentés et vont être amenés à changer dans les années à venir.

2.3. Détérioration des paramètres de reproduction de la vache laitière depuis plusieurs décennies

Depuis les années 1980, la fertilité à l'échelle du troupeau a diminué de manière significative et rapide dans plusieurs régions du monde en race Prim' Holstein (Casida, 1961; Dransfield *et al.*, 1998; Silvia, 1998) et plus particulièrement chez les animaux les plus productifs (Pinto *et al.*, 2000; Vallet *et al.*, 1997). Chez les autres races laitières les plus représentées sur le territoire français, les performances de reproduction se sont également dégradées mais de manière moins marquée en race Normande alors que les performances des vaches Montbéliardes paraissent relativement stables sur les dernières décennies (Chuiton, 2017). Durant la même période, la fertilité des génisses est restée stable (Le Mezec *et al.*, 2014). Cette dégradation semble stoppée depuis le milieu des années 2000 en France, probablement suite à l'introduction de paramètres de fertilité dans les index des taureaux d'insémination au début des années 2000 (Chuiton, 2017).

Entre les années 1995 et 2005, une baisse de fertilité à hauteur de un point par an a été observée par de nombreux auteurs (Barbat *et al.*, 2005; Boichard *et al.*, 2002; Freret *et al.*, 2011; Lucy, 2001; Royal *et al.*, 2000). La reprise de cyclicité post-partum de la vache laitière se caractérise actuellement par une première ovulation vers trente jours post-partum (Opsomer et De Kruif, 2008), soit un allongement entre 1970 et 200 d'environ dix jours (Wiltbank *et al.*, 2006).

Le Tableau 6 présente une synthèse de l'évolution de différents paramètres de reproduction au cours des dernières décennies, sur la base d'études publiées au cours des dernières décennies.

Tableau 6 : Détérioration de différents paramètres de la reproduction au cours des dernières décennies chez la vache laitière

Années d'étude	IVIA1 (jours)	IVIAF (jours)	% vaches à 3IA et plus	TRIA1	% de vaches fécondées après 110 j	Référence
1982		100		< 50%	27%	Champy 1982
1994		109	30,5	43,7%	30%	Vallet 1997
1995 à 2002 *			36%	-4,1 à -7,9%*		Le Mezec 2005
2004	70,3 (±1,9)	127,5 (±9,4)	43,7%	26,6%		Touzé 2004

* : dans cette étude portant sur une période longue, les résultats présentés correspondent à la diminution observée des paramètres, et non pas à la valeur du paramètre

IVIA1 : Intervalle vêlage - première insémination artificielle
 IVIAF : Intervalle vêlage - insémination artificielle fécondante
 IA : Insémination artificielle

La fertilité d'une vache est influencée par de très nombreux paramètres qui ne seront pas détaillés dans ce manuscrit (à l'exclusion de l'influence des mammites sur ces paramètres, qui fera l'objet d'un chapitre spécifique). Le Tableau 7 présente une synthèse des principaux facteurs individuels et collectifs conduisant à une détérioration de la reproduction.

Tableau 7 : Facteurs individuels et collectifs responsables de détérioration de la reproduction (d'après Hanzen, 2015b)

Facteurs individuels	Facteurs de troupeau
Âge	Politique d'insémination au cours du post-partum
Génétique	Détection des chaleurs
Production laitière	Moment d'insémination pendant les chaleurs
Difficultés de vêlage	Nutrition
Gestation gémellaire	Saison
Mortalité périnatale	Type de stabulation
Rétention placentaire	Taille du troupeau
Hypocalcémie puerpérale	Qualité de la semence
Involution cervicale et utérine	Technicité de l'inséminateur
Infection du tractus génital	Aspects sociologiques (capacité de gestion, attitudes de l'éleveur vis-à-vis des problèmes présents dans son élevage)
Inactivité ovarienne	

3. Influence des mammites sur la fertilité de la vache laitière et effet d'un traitement AINS lors de mammites sur la fertilité

Comme nous l'avons abordé au chapitre précédent, la fertilité des vaches laitières s'est fortement dégradée au cours des dernières décennies. Parmi les causes de la détérioration de la fertilité bovine, plusieurs études ont souligné l'impact des mammites sur la fonction de reproduction. Ces preuves, tout d'abord issues d'études épidémiologiques rétrospectives, sont actuellement mieux comprises d'un point de vue physiopathologique.

3.1. Impact des mammites sur la fertilité – données épidémiologiques

3.1.1. Effets des mammites cliniques sur la fertilité

3.1.1.1. Impact des mammites cliniques sur la fertilité

Pendant de nombreuses années, l'impact des mammites bovines sur la fertilité des vaches laitières a été difficile à estimer. La plupart des études ayant évalué l'effet des mammites sur les performances de reproduction ont été rétrospectives, et le diagnostic et l'enregistrement des cas de mammites cliniques réalisé par l'éleveur, avec toutes les limites que ceci implique dans la qualité des données. Il est par conséquent important de noter que des différences inhérentes en termes de diagnostic et d'enregistrement des événements existent en fonction des études, pouvant expliquer dans certains cas, des conclusions différentes selon les auteurs. Néanmoins, et en dépit de ces risques, la plupart des études démontrent une corrélation négative entre mammites et fertilité.

L'une des premières études ayant démontré une corrélation entre la survenue d'une mammites clinique et une détérioration des performances de reproduction date de 1991 (Moore *et al.*, 1991). Cette étude, portant sur deux élevages, a mis en évidence que les vaches atteintes de mammites étaient plus à risque de présenter des intervalles interœstrus anormaux lors de mammites dues à un coliforme mais pas lors d'infection par *S. aureus* (Moore *et al.*, 1991). Il a alors été suspecté que les mammites à bactéries Gram négatif conduisaient à une mortalité embryonnaire et/ou à une altération de la fonction lutéale.

De la même façon, une étude de 1998 a souligné que les vaches développant une mammites clinique au cours du premier mois et demi de gestation présentaient un risque de non gestation accru au cours des trois mois suivants par rapport à des vaches ne présentant pas de mammites clinique (Risco *et al.*, 1999). Dans cette même étude, les vaches ayant subi une mammites avant leur première insémination présentaient un intervalle vêlage-1^{ère} insémination augmenté (93,6 jours \pm 5,6) par rapport à celles non malades durant cette même période (71,0 jours \pm 2,2). Contrairement à l'équipe de Moore, l'équipe de Barker trouve que la corrélation entre mammites et fertilité est indépendante du type de bactérie (Risco *et al.*, 1999).

Cependant en 2000, Fourichon *et al.* ont analysé, dans le cadre d'une méta-analyse, 70 publications estimant les effets de différentes affections (hypocalcémie clinique, mortinatalité, déplacement de caillette, cétose clinique, rétention placentaire, kystes ovariens, infections utérines, boiteries et mammites) sur l'intervalle vêlage-1^{ères} chaleurs, vêlage-1^{ère} insémination, vêlage-insémination fécondante, vêlage-vêlage et sur le taux de gestation (Fourichon *et al.*, 2000). Dans cette méta-analyse, les mammites cliniques n'étaient associées à la détérioration d'aucun paramètre de la reproduction précédemment cité, bien que les vaches atteintes de mammites avaient moins de

chance d'être inséminées (Fourichon *et al.*, 2000). Depuis cette publication, plusieurs études ont néanmoins mis en évidence un lien entre l'inflammation mammaire et une diminution de certains indicateurs de la reproduction (Ahmadzadeh *et al.*, 2009 ; Albaaj *et al.*, 2017 ; Hertl *et al.*, 2010, 2014 ; Schrick *et al.*, 2001). Ces études soulignent toutes la diminution de la probabilité d'être gravide chez les vaches atteintes de mammites.

Les mammites cliniques ont par conséquent un effet sur la fertilité des vaches laitières comme le soulignent plusieurs études. Les vaches ne sont cependant pas soumises qu'au risque de mammité durant leur lactation : autres infections, troubles métaboliques, etc. Ahmadzadeh et ses collaborateurs ont étudié les effets des mammites cliniques et d'autres affections sur les performances de reproduction dans un grand troupeau (967 vaches) de l'Idaho (USA) (Ahmadzadeh *et al.*, 2009). Dans ce troupeau, le groupe de vaches développant en début de lactation une mammité et un autre trouble de la santé, ainsi que le lot de vaches n'ayant été atteintes que par une mammité présentaient un nombre d'inséminations pour aboutir à une gestation plus élevé (respectivement $3 \pm 0,4$ et $2,1 \pm 0,1$) et une probabilité de gestation plus faible par rapport aux animaux n'ayant pas développé d'affection ($P < 0,05$). L'intervalle vêlage-insémination fécondante était également plus élevé chez les vaches atteintes de mammité clinique, quel que soit le moment où survenait le cas par rapport à l'insémination. Les résultats de cette étude ont conduit les auteurs à suggérer que l'effet des mammites et d'autres maladies sur la reproduction étaient additifs (Ahmadzadeh *et al.*, 2009), demandant une politique de gestion adaptée. D'autre part la proportion de vaches non gestantes parmi les vaches atteintes de mammité clinique augmente le risque de réforme pour infécondité, dont l'impact économique (perte du potentiel génétique, coût de l'élevage des génisses de renouvellement, etc.) peut être important.

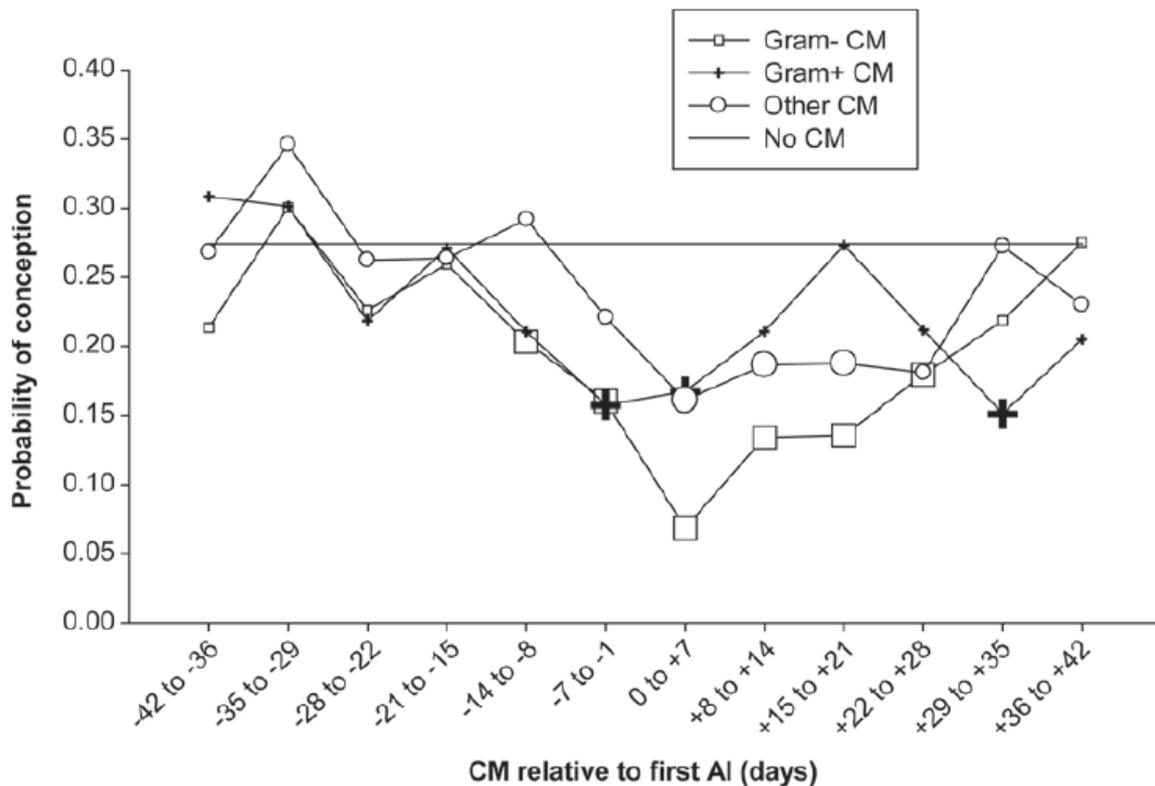
3.1.1.2. Impact du type de bactérie impliquée sur la fertilité

Pendant plusieurs années, seules les mammites à bactéries coliformes étaient suspectées d'impacter la reproduction (Moore *et al.*, 1991), vraisemblablement en raison de l'importance de l'inflammation induite par les lipopolysaccharides sur différents niveaux de la reproduction (Lüttgenau *et al.*, 2016a; Poutrel, 2008). Néanmoins des études récentes menées en Amérique du Nord ont conduit à revoir cette hypothèse.

En 2010, Hertl et ses collaborateurs ont étudié les effets des mammites cliniques à bactéries Gram positif et Gram négatif sur la probabilité de gestation dans des élevages du Nord Est Américain (Hertl *et al.*, 2010). Dans cette étude rétrospective portant sur 14 148 vaches de race Prim' Holstein, réparties dans sept troupeaux, les données de reproduction (dates d'insémination, de vêlage, etc.) et les données concernant les cas cliniques de mammites (date de survenue, score clinique, données de bactériologiques) ont été utilisées pour développer un modèle linéaire. Ce modèle a été utilisé afin d'étudier les effets du moment de la survenue d'un cas de mammité clinique par rapport à l'insémination, les résultats étant analysés en prenant en compte le type de bactérie impliquée (bactérie Gram positif, Gram négatif ou autre type de pathogène). Différents scénarios ont été investigués : mammité survenant six, cinq, quatre, trois, deux ou une semaine avant l'IA ; mammité survenant une, deux, trois, quatre cinq ou six semaines après l'insémination ; effet du moment de la survenue de la mammité sur les différents rangs d'insémination, et effet du type de mammité. Au bilan tout type de mammité clinique survenant entre 14 jours avant et cinq semaines après l'insémination était associé à une diminution de la probabilité de gestation (Hertl *et al.*, 2010). Dans cette étude l'effet le plus important était rencontré lorsque l'épisode de mammité survenait dans la semaine précédant l'insémination et impliquait une bactérie Gram négatif, conditions pour lesquelles la probabilité de gestation était réduite de 80 % (Figure 12). Enfin, les données analysées ont révélé

un effet des mammites cliniques, quel que soit le germe impliqué, sur la probabilité de gestation même si les effets étaient plus prononcés lorsqu'une bactérie Gram négatif était impliquée (Hertl *et al.*, 2010).

Figure 12 : Probabilité de gestation en première insémination, pour une vache en seconde lactation, élevée au printemps avec ou sans mammite clinique, selon le germe impliqué lors de la mammite clinique (d'après Hertl *et al.*, 2010)

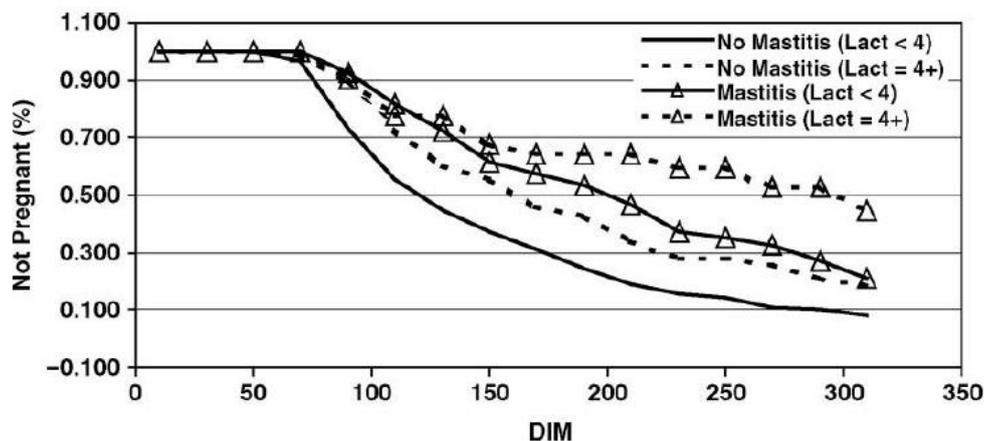


En 2008, l'équipe de Wilson a étudié une population de 557 vaches issues de trois troupeaux (Wilson *et al.*, 2008). Certaines vaches (251) étaient vaccinées à l'aide d'un vaccin mammite dirigé contre *E. coli* (vaccin J5) alors que les autres (306) composaient le lot non vacciné, ou lot témoin. Les cas de mammites cliniques, survenant naturellement, ont été analysés : des examens bactériologiques étaient réalisés lorsqu'une mammite clinique était détectée (tout grade de mammite), et les niveaux de production ainsi que les performances de reproduction étaient collectées rétrospectivement. Les examens bactériologiques ont révélé une prédominance des germes d'environnement à la fois chez les vaches vaccinées (*E. coli* : 27/105 prélèvements ; *Streptococcus* spp. : 26/105 ; *Klebsiella* spp. : 8/105) et chez les vaches non vaccinées (*E. coli* : 15/99 prélèvements ; *Streptococcus* spp. : 26/99 ; *Klebsiella* spp. : 13/99).

Comme présenté dans la Figure 13, la probabilité d'être gravide à 300 jours post-partum est significativement plus faible chez les vaches atteintes de mammites par rapport aux vaches n'ayant pas eu de mammite ($P < 0,0001$), tout comme cette probabilité est plus faible chez les vaches à en seconde ou troisième lactation par rapport aux vaches dont la parité est supérieure ou égale à quatre ($p < 0,0001$) (Wilson *et al.*, 2008). Lorsque l'impact du type de bactérie isolée des cas cliniques de mammite sur les performances de reproduction était analysé, *E. coli* et *Streptococcus* spp. étaient les

deux pathogènes les plus associés à une diminution du taux de gestation (taux de gestation respectivement de 41,7 % (P = 0,001) et de 37,5 % (P < 0,0001). Parmi les cas cliniques liés à *E. coli*, le taux de gestation était significativement plus faible parmi les vaches du lot vacciné (taux de gestation de 16,7 %, P < 0,0001) alors que celui-ci n'était pas significativement plus faible chez les vaches du lot non vacciné (taux de gestation de 66,7 %, P = 0,58). De même, l'infection mammaire par *E. coli* et *Klebsiella* était significativement associée à une augmentation du nombre d'inséminations nécessaires pour aboutir à une gestation (respectivement P = 0,04 et P = 0,02) (Wilson *et al.*, 2008). Cette étude souligne par conséquent que les infections par *E. coli* ou par *Streptococcus* spp. sont toutes deux associées à une détérioration du taux de gestation.

Figure 13 : Evolution du pourcentage de vaches non gravides en fonction de l'augmentation du nombre de jours en lait (d'après (Wilson *et al.*, 2008)).



Suite aux résultats obtenus en 2010 et décrits dans le début de ce paragraphe (Hertl *et al.*, 2010) (l'équipe avait alors évalué l'effet du Gram de la bactérie à l'origine de la mammite sur la probabilité de gestation), l'équipe de J.A. Hertl a étudié en 2014 l'impact de l'agent pathogène à l'origine de la mammite clinique sur la probabilité de gestation (Hertl *et al.*, 2014). Les mammites cliniques survenant dans un intervalle allant de six semaines avant jusqu'à six semaines après l'insémination, ainsi que les quatre premières inséminations, ont été incluses dans un modèle statistique. L'effet des différents agents pathogènes mammaires identifiés par culture a alors été étudié. Au total, les données de près de 90 271 inséminations artificielles issues de 20 328 vaches (39 361 lactations) ont été analysées. Cette équipe a ainsi permis de comprendre que les plus forts effets sur la probabilité de gestation étaient observés lorsqu'un cas de mammite clinique causée par *E. coli* et par *Klebsiella* spp. survenaient une ou deux semaines après l'insémination (Hertl *et al.*, 2014). Cet effet était cependant également retrouvé avec les autres pathogènes mammaires majeurs que sont les Streptocoques mammaires et *S. aureus*, et d'autres pathogènes mammaires (Figure 14).

3.1.1.3. Impact du grade de la mammite sur la fertilité

Le grade de la mammite semble jouer un rôle sur l'importance de l'effet exercé sur la fertilité. Dans une étude menée sur près de 3 100 vaches dans quatre troupeaux du Wisconsin (USA), l'équipe de Fuenzalida a mis en évidence que le taux de réussite en première insémination était inversement corrélé avec le grade de mammite (Fuenzalida *et al.*, 2015). Ainsi la probabilité d'avoir

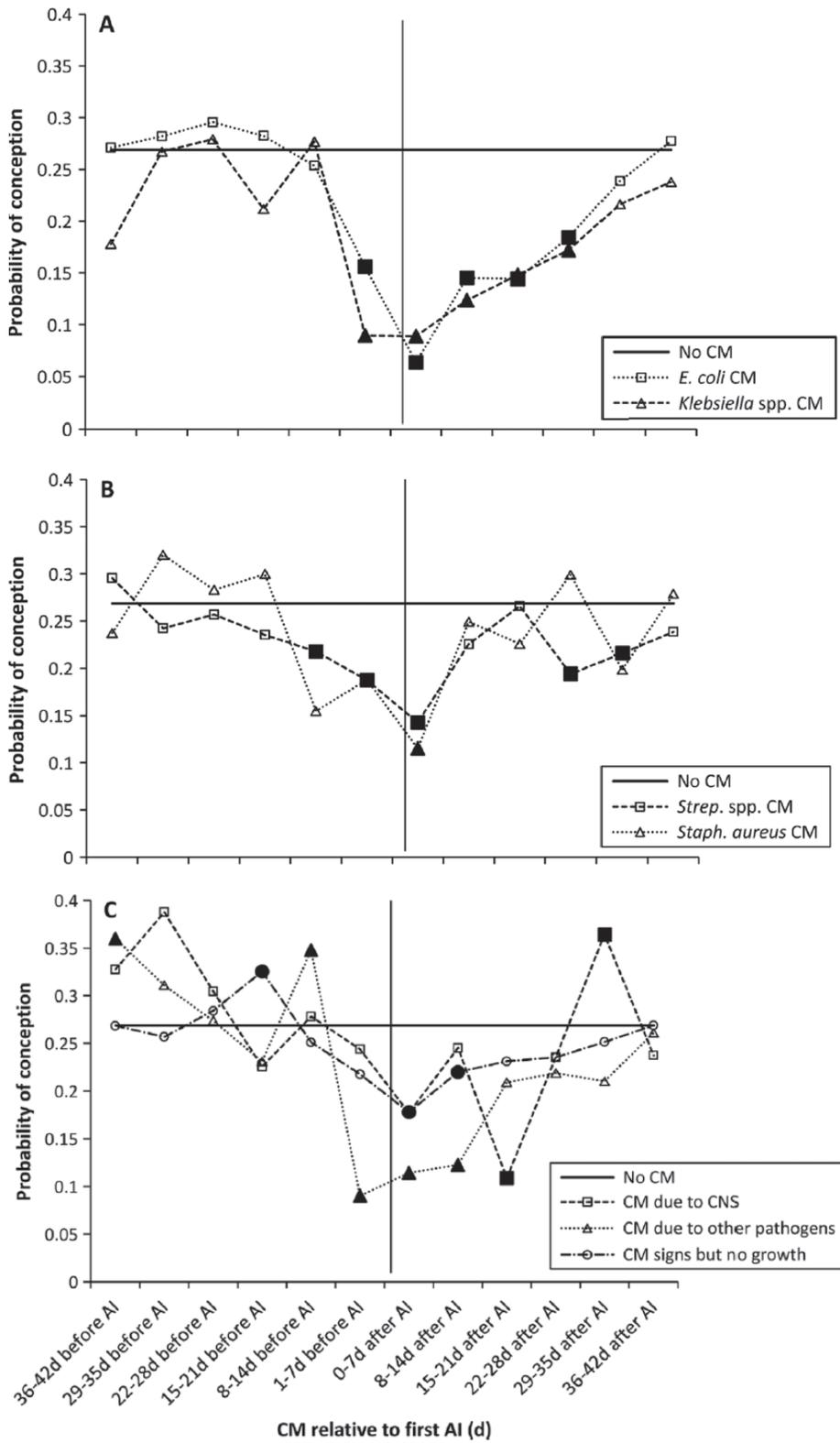
une insémination fécondante en première insémination était de 0,71 (0,5-0,99) lors de mammite de grade 1, et de 0,54 (0,35-0,83) lors de mammite de grade 2 et 3. Dans cette étude la sévérité de la mammite était le paramètre impactant le plus la réussite en première insémination, paramètre plus important que la bactérie à l'origine de la mammite.

3.1.2. Effets des mammites subcliniques sur la fertilité

L'impact des mammites cliniques sur la fertilité a été étudié depuis plusieurs années. Quelques études plus récentes se sont attachées à étudier l'impact des mammites subcliniques, également associées à des perturbations inflammatoires à l'échelle de l'organisme, sur la fertilité des vaches laitières.

Entre 1986 et 1997, Schrick et ses collègues ont étudié l'impact des mammites subcliniques intervenant en début de lactation sur les paramètres de reproduction chez des vaches Jersiaises (Schrick *et al.*, 2001). Les vaches étaient classées selon le type de mammite (clinique, subclinique ou absence de mammite) mais aussi selon le moment où survenait l'épisode de mammite (avant la première insémination, entre la première insémination et la gestation et après le diagnostic de gestation). Les mammites, qu'elles soient cliniques ou subcliniques, survenant avant la première insémination s'accompagnaient d'une augmentation de l'IVIA1 (respectivement $77,3 \pm 2,7$ et $74,8 \pm 2,7$ jours ; groupe sain : $67,8 \pm 2,2$ jours, $P < 0,05$), d'une augmentation de l'IVIAF ($110,0 \pm 6,9$ et $107,7 \pm 6,9$ jours ; groupe sain : $85,4 \pm 5,8$ jours, $P < 0,05$) et du nombre d'inséminations nécessaires pour obtenir une insémination fécondante ($2,1 \pm 0,2$ et $2,1 \pm 0,2$; groupe sain : $1,6 \pm 0,2$). Lorsque la mammite survenait après la première insémination, aucun impact n'était rencontré sur les différents indicateurs de reproduction chez les vaches atteintes de mammites subcliniques, à l'exception notable des vaches présentant initialement une mammite subclinique évoluant vers une mammite clinique. Dans ce dernier cas, l'IVIA1 et le nombre d'insémination nécessaire pour aboutir à une gestation augmentaient ($93,9 \pm 10,1$ jours et $4,3 \pm 0,7$ respectivement). Enfin les cas d'infection mammaire survenant après le diagnostic de gestation n'étaient pas associés à une variation des paramètres de reproduction par rapport aux animaux ne présentant pas de mammites. Ces résultats ont depuis été confirmés dans d'autres études dans différents systèmes d'élevage et différentes régions du monde. Ainsi la probabilité de réussite en première insémination est réduite de 20 % chez les vaches présentant une mammite subclinique dans une étude chilienne (Pinedo *et al.*, 2009), de 60 % dans une étude suédoise (Lomander *et al.*, 2013) et de 14 % lorsque la concentration en cellules somatiques augmente ou reste élevée dans les 40 jours avant et après l'IA dans une étude française (Albaaj *et al.*, 2017). La probabilité de conception par insémination est diminuée de la même manière lorsque l'épisode de mammite survient entre 28 jours avant et 70 jours après la période d'insémination (Hudson *et al.*, 2012).

Figure 14 : Probabilité de gestation en première insémination, pour une vache en seconde lactation, élevée à l'automne, sans mammite clinique ou avec une mammite due à différents pathogènes (d'après (Hertl *et al.*, 2014))



Légende : les sigles apparaissent en noir lorsqu'une différence statistiquement significative ($p < 0,01$) est observée

3.1.3. Importance du moment de la survenue de la mammite par rapport à l'insémination

Il est bien établi que l'effet négatif des mammites sur la fertilité est variable en fonction du moment de survenue de l'infection mammaire par rapport à l'insémination. Néanmoins les données disponibles dans la littérature sont souvent contradictoires concernant la période autour de l'IA où les effets sont les plus marqués.

L'une des premières études portant sur l'effet des mammites cliniques survenant en début de lactation sur les performances de reproduction chez des vaches Jersiaises a montré que seules les mammites survenant avant la première insémination étaient associées avec un allongement de l'intervalle vêlage-vêlage, celles survenant entre la première IA et le diagnostic de gestation ou celles survenant après la confirmation de la gestation n'étant pas associées à une modification de cet indicateur (Barker *et al.*, 1998). Au contraire, les mammites survenant entre la première insémination et la gestation étaient associées à une augmentation du nombre d'insémination permettant d'aboutir à une gestation : les mammites survenant avant la première IA et après le diagnostic de gestation n'étaient pas elles associées à une détérioration de ce paramètre (Barker *et al.*, 1998). Au bilan l'intervalle vêlage – insémination fécondante est plus élevé chez les vaches ayant eu une mammite avant insémination, et entre la première insémination et la gestation (respectivement $113,7 \pm 10,8$ et $136,6 \pm 13,3$ jours) par rapport aux vaches n'ayant pas eu de mammite sur la même période ou celles ayant eu une mammite après la confirmation de la gestation ($92,1 \pm 4,6$ jours, $P < 0,01$) (Barker *et al.*, 1998).

Le moment de survenue de la mammite par rapport à l'insémination mais aussi l'identité du pathogène impliqué dans la mammite influent sur le taux de réussite à l'insémination. Ainsi Hertl et ses collègues ont mis en évidence qu'une mammite clinique intervenant à n'importe quel moment entre 14 jours avant et 35 jours après l'insémination était associée à une réduction du taux de conception (Hertl *et al.*, 2010). Cet effet était équivalent que la bactérie impliquée soit une bactérie Gram positif ou Gram négatif lorsque la mammite survenait durant les 14 jours précédant le jour de l'insémination. Au contraire, cet effet était plus marqué lors de mammite clinique liée à une bactérie Gram négatif la semaine suivant l'insémination (taux de réussite seulement de 7 % au lieu d'un taux de réussite de 27 %). Cet effet délétère supérieur des mammites à bactéries Gram négatif par rapport aux bactéries Gram positif est retrouvé lors de mammite survenant durant les semaines suivant l'insémination. Ces résultats ont été confirmés dans une autre étude par cette même équipe plus récemment (Hertl *et al.*, 2014) (Figure 14).

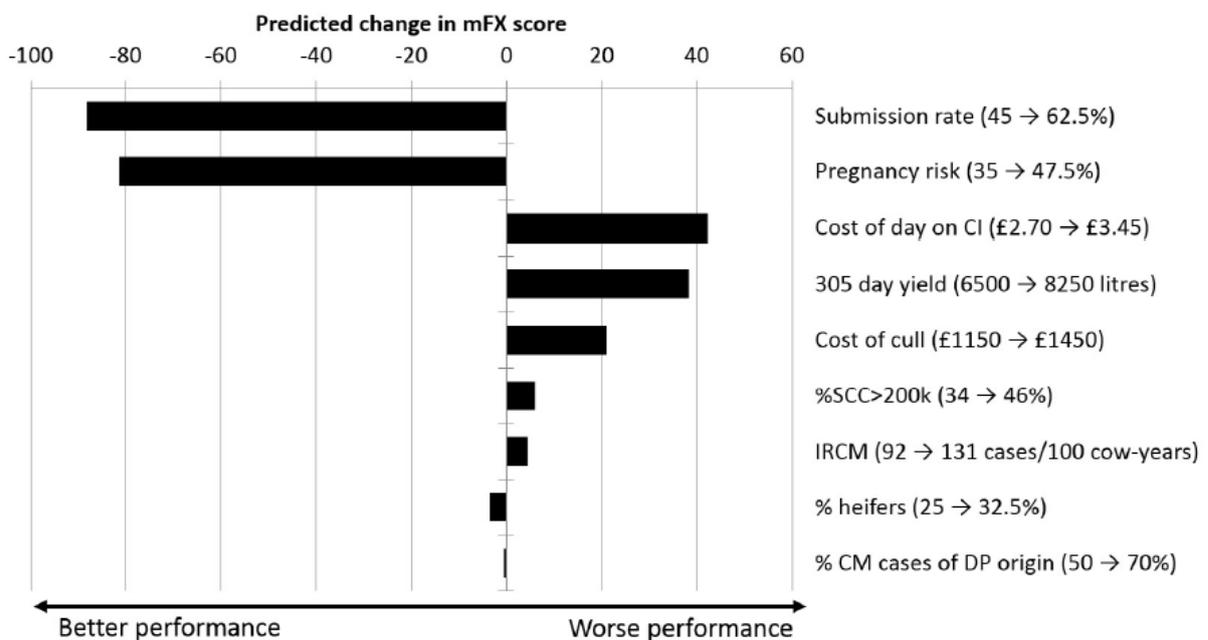
Cet impact du moment de survenue de la mammite par rapport à l'insémination est également retrouvé lors de mammites subcliniques. Ainsi Lavon et ses collègues ont mis en évidence qu'une unique élévation de la concentration cellulaire dix jours avant l'insémination était associée à une réduction de la probabilité de réussite de l'insémination de 23,6 % (Lavon *et al.*, 2011a). Cet effet n'était pas retrouvé lorsque la mammite subclinique survenait à un autre moment.

3.1.4. Les mammites influencent-elles la fertilité à l'échelle d'un élevage ?

De nombreuses études ont au cours des dernières années mis en évidence un lien entre mammite et fertilité. Les infections mammaires jouent vraisemblablement un rôle dans la diminution de la fertilité observée à l'échelle de la population bovine. Il est cependant difficile de déterminer, dans le cadre d'un élevage présentant une détérioration des performances de reproduction, le poids que les mammites peuvent avoir dans cette dégradation. Récemment, une étude se basant sur l'analyse de sensibilité probabiliste s'est intéressée à cette question (Hudson *et al.*, 2015). L'analyse

de sensibilité probabiliste est une technique basée sur la simulation qui permet d'évaluer l'importance relative de différentes variables dans un modèle complexe. Cette méthode peut s'appliquer parfaitement pour un élément aussi variable que la reproduction. L'équipe d'Hudson a donc utilisé cette méthode pour évaluer l'association entre le statut mammaire à l'échelle d'un élevage et les performances de reproduction des troupeaux laitiers. D'après leurs résultats, un fort niveau d'infection mammaire a peu de chance d'influer de manière significative sur les performances de reproduction dans un troupeau laitier standard, par comparaison à certains facteurs comme la proportion de vaches pouvant être inséminées qui sont réellement inséminées ou encore la réussite à l'insémination. Ainsi, une augmentation importante de l'incidence des mammites (par exemple le passage de 92 à 131 cas de mammites pour 100 vaches et par an) serait à l'origine d'une perte économique liée à son impact sur la reproduction de près de 6 € seulement par vache et par jour (Figure 15).

Figure 15 : Effet prévisible d'une augmentation équivalente de chaque différents sur la fertilité globale (d'après (Hudson *et al.*, 2015))



Ces résultats confirment que la gestion de la reproduction (observation des chaleurs, mise à la reproduction adéquate des animaux par l'éleveur, etc.) joue un rôle majeur dans les performances de reproduction de l'élevage, et que l'impact des mammites est moindre par rapport à la conduite d'élevage. Une amélioration à la marge est cependant possible lors de maîtrise des mammites à l'échelle d'un élevage.

Au bilan, les mammites jouent vraisemblablement un rôle dans la baisse de fertilité observée depuis plusieurs décennies (même si d'autres facteurs jouent également un rôle). Les paragraphes suivants vont chercher à comprendre par quels mécanismes l'inflammation de la mamelle peut conduire à cette détérioration de la reproduction.

3.2. Mécanismes expliquant l'impact des mammites sur la fertilité des vaches

3.2.1. Influence des mammites sur l'axe hypothalamo-hypophysaire ovarien

Face à l'impact des mammites sur la fertilité des vaches, plusieurs hypothèses permettant d'expliquer d'un point de vue physiopathologique le lien entre inflammation mammaire et reproduction ont été émises. L'une d'entre elle conduit à envisager un impact de l'inflammation sur l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Tout d'abord, les cytokines inflammatoires peuvent conduire au développement d'une fièvre à même de perturber la reproduction. Ce type de symptôme est classiquement rencontré dans les mammites cliniques de grade 3, mais pas dans les mammites cliniques de grade inférieur ni, par définition, dans les mammites subcliniques. La fièvre secondaire à l'action des cytokines inflammatoires sur l'hypothalamus est susceptible d'avoir un impact sur la reproduction à différents niveaux : altération de la qualité des ovocytes contenus dans les plus gros follicules (conduisant à un impact immédiat) et sur ceux contenus dans les follicules de plus petit diamètre (impact sur la fertilité jusqu'à deux mois après l'épisode d'hyperthermie) (Chastant-Maillard, 2016). La fièvre peut également conduire à une mortalité embryonnaire au cours des trois jours suivant la fécondation (Chastant-Maillard, 2016).

D'autre part, certains auteurs suspectent que l'impact des mammites sur le nombre d'IA nécessaires pour obtenir une gestation serait dû à une inhibition de la sécrétion des hormones gonadotropes, conduisant à un effet réduit de ces hormones sur l'ovulation, la maturation ovocytaire, la folliculogénèse et l'activité du corps jaune (Hansen *et al.*, 2004). Certaines cytokines ont déjà démontré une capacité à diminuer la libération de la LH (McCann *et al.*, 2000). Chez le bovin par exemple, il a été démontré que l'IFN α possédait cette capacité (Barros *et al.*, 1992). La sécrétion de la LH peut également être bloquée par une augmentation du cortisol (Li et Wagner, 1983 ; Padmanabhan *et al.*, 1983; Stoebel et Moberg, 1982), hormone dont le niveau de sécrétion est élevé lors de mammite (Hockett *et al.*, 2000 ; Leslie et Petersson-Wolfe, 2012) ou lors d'endotoxémie induite expérimentalement (Kujjo *et al.*, 1995 ; Peter *et al.*, 1989 ; Suzuki *et al.*, 2001). Ces différents effets conduisent donc à une réduction de la sécrétion de LH, et à un pic préovulatoire absent ou décalé et d'ampleur diminuée (Chastant-Maillard, 2016). A l'heure actuelle, si l'effet de ces médiateurs de l'inflammation a été démontré dans certaines affections ou dans le cadre de certains modèles expérimentaux (infusion d'endotoxines par voie intra-utérine par exemple (Peter *et al.*, 1989)), il convient de noter que la démonstration de l'effet des mammites « de terrain » sur l'axe hypothalamo-hypophysaire reste à faire. Son implication semble néanmoins très probable dans les troubles de reproduction observés dans les études épidémiologiques.

L'effet de la LH à plusieurs niveaux sur la reproduction de la vache peut expliquer les effets des mammites sur cette fonction. Son intervention dans la fin de la croissance folliculaire, l'induction de l'ovulation, la production d'œstradiol par les follicules conduisent à des conséquences diverses. La diminution de la production d'œstradiol peut ainsi expliquer la moindre expression des chaleurs (Hockett *et al.*, 2005), alors que les anomalies du pic de LH conduisent à une anovulation et à la formation de kystes folliculaires (Chastant-Maillard, 2016). Cet effet peut avoir lieu en l'absence d'hyperthermie, conduisant à un impact de tous les types de mammites sur la reproduction (et pas uniquement les mammites de grade élevé).

Figure 16 : Profil de croissance des follicules durant les dernières étapes de la synchronisation des chaleurs et des follicules de la première vague folliculaire (J_2 à J_8) (d'après (Lavon *et al.*, 2011b))

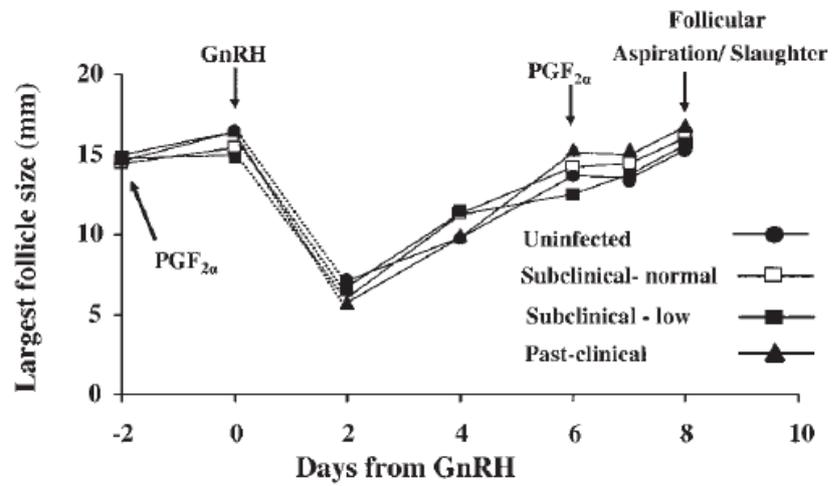
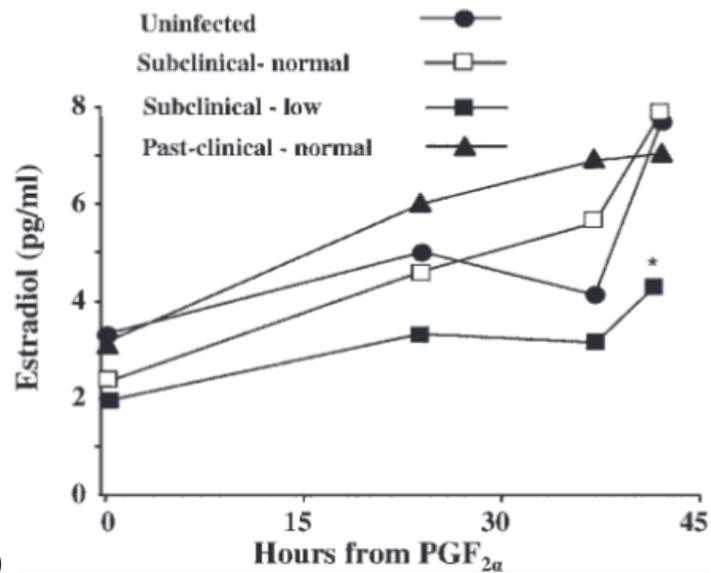


Figure 17 : Concentrations moyennes en œstradiol plasmatique durant la phase folliculaire, de la première injection de $PGF_{2\alpha}$ au 6^{ème} jour du cycle jusqu'à la collecte des follicules 48 heures après.



(d'après (Lavon *et al.*, 2011b))

Légende commune à la

Figure 16 et à la Figure 17 :

Cercle noir : animaux non atteints de mammites ;

Carré blanc : animaux atteints de mammites subcliniques, concentration en œstradiol folliculaire normale ;

Carré noir : animaux atteints de mammites subcliniques, concentration en œstradiol folliculaire faible ;

Triangle noir : animaux atteints de mammites cliniques quelques semaines avant le début de l'étude

Les mammites agissent également sur la stéroïdogénèse folliculaire, pouvant par la même exercer un effet négatif sur la reproduction des vaches. Des essais *in vitro* ont ainsi mis en évidence que certaines cytokines inflammatoires, telles que IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α et IFN α (toutes induites lors de mammites) inhibaient la production d'œstradiol par les cellules de la granulosa (Alpizar et Spicer, 1994 ; Spicer et Alpizar, 1994). De même, des cas de mammites cliniques aigus induits par l'administration de LPS conduisent à une diminution immédiate de la concentration des fluides folliculaires en œstradiol et en androsténédione. Ces effets sont alors de courte durée (Lavon *et al.*, 2011c).

Les mammites cliniques ne sont pas les seules mammites pouvant exercer un effet sur la fonction ovarienne. Les mammites subcliniques sont ainsi associées à une diminution des concentrations sanguines en œstradiol et à un retard du pic de LH. Ainsi Lavon et ses collaborateurs ont étudiés l'effet de mammites subcliniques et de mammites cliniques anciennes (cas de mammites de courte durée survenant 40 ± 6 jours avant le début de l'étude) sur les follicules préovulatoires et sur la production d'œstradiol (Lavon *et al.*, 2011b). Dans cette étude réalisée en Israël, tous les cas de mammites cliniques étaient dus à *E. coli*, alors que les cas de mammites subcliniques étaient principalement dus à *S. dysgalactiae* et à des staphylocoques coagulase négative. Après administration d'un traitement de synchronisation des chaleurs (deux injections de PGF2 α à 13 jours d'intervalle), les vaches incluses dans l'étude recevaient une injection d'un analogue de la GnRH 48 heures après la dernière administration de PGF2 α afin d'induire l'ovulation. Au 6^{ème} jour du cycle, les animaux recevaient deux injections de PGF2 α à 10 heures d'intervalle. Finalement au 8^{ème} jour du cycle, les follicules préovulatoires étaient collectés. La croissance folliculaire n'était pas affectée par la présence ou non d'un cas de mammites (Figure 16) (Lavon *et al.*, 2011b). Les concentrations en œstradiol folliculaire et en androsténédione (précurseur de l'œstradiol) étaient en moyenne 40 % plus faibles chez les vaches présentant une mammites subclinique (n = 28) que chez les animaux non atteints de mammites (n = 24) ou que celles ayant présenté une mammites clinique précédemment (n = 9) (P < 0,05). De façon très intéressante, lorsque l'analyse de la distribution des concentrations hormonales chez les vaches atteintes de mammites subcliniques était réalisée, une divergence individuelle était observée. Ainsi neuf des 28 vaches atteintes de mammites subcliniques présentaient une concentration en œstradiol folliculaire faible alors que les autres animaux présentaient des concentrations en œstradiol normales, équivalentes à celle des animaux atteints de mammites cliniques ou non atteints de mammites. Parmi les animaux atteints de mammites subcliniques, les vaches présentant une concentration normale en œstradiol folliculaire présentaient des concentrations en œstradiol sanguine deux fois supérieures, des concentrations en androsténédione sept fois supérieures, et un ratio œstradiol/progestérone quatre fois supérieur à celui des vaches atteintes de mammites subcliniques présentant une concentration faible en œstradiol folliculaire (Figure 17) (Lavon *et al.*, 2011b). Les concentrations en progestérone folliculaire, elles, n'étaient pas affectées par la présence d'une mammites subclinique. Afin d'expliquer cette moindre concentration en œstradiol, pouvant en premier lieu être liée aux plus faibles concentrations du précurseur de l'œstradiol qu'est l'androsténédione, l'expression des gènes du récepteur à la LH (*LHCGR*), du cytochrome P450 aromatasé (*CYP19A1*), enzyme intervenant dans la production de l'œstradiol, du récepteur à la FSH (*FSHR*) a été étudiée. L'expression de *LHCGR* dans les cellules de la thèque et de la granulosa, et du cytochrome P450 aromatasé dans les cellules de la

thèque était diminuée chez les vaches atteintes de mammites subcliniques et présentant une concentration faible en œstradiol folliculaire ; ceci pouvant expliquer en partie la diminution de la production d'hormones stéroïdiennes au niveau folliculaire. Au bilan de cette étude, les auteurs concluent que les mammites n'altèrent pas la dynamique de croissance folliculaire et qu'il ne semble pas exister d'effet des mammites cliniques passées sur la fonction folliculaire. Des altérations de la stéroïdogénèse sont rencontrées chez près d'un tiers des animaux de l'étude atteints de mammites subcliniques pouvant expliquer une diminution de la fertilité chez ces vaches. Notons que dans cette étude, les bactéries associées avec les cas de mammites subcliniques étaient *Streptococcus dysgalactiae* et les staphylocoques coagulase négative.

Plus récemment, la même équipe a développé un modèle expérimental d'induction de mammites subcliniques, basé sur l'administration intramammaire d'une dose d'endotoxines d'*E. coli* ou sur l'administration d'une dose d'exosécrétions de *S. aureus*, modèle expérimental utilisé pour étudier les effets de ces toxines bactériennes sur la fonction folliculaire de la vache laitière (Lavon *et al.*, 2011c). Cette étude démontre un effet différent des mammites cliniques et mammites subcliniques sur la stéroïdogénèse folliculaire. Les mammites cliniques, induites par l'administration de LPS, conduisaient comme nous l'avons évoqué précédemment à une diminution marquée et immédiate des concentrations folliculaires en œstradiol et androsténédione mais n'avaient pas d'effets à long terme. Les mammites subcliniques à *S. aureus* conduisaient à une diminution immédiate des concentrations en œstradiol dans le liquide folliculaire durant la phase aiguë de l'inflammation, diminution rencontrée sur le long terme, plusieurs semaines après l'administration de la toxine de *S. aureus*. Cette étude souligne par conséquent les effets à long terme de l'inflammation sur la stéroïdogénèse ovarienne lors de mammites subcliniques (Lavon *et al.*, 2011c).

3.2.2. Influence des mammites sur la fonction ovarienne

3.2.2.1. Influence de l'inflammation sur la maturation ovocytaire

Quelques études ont investigué les effets des mammites sur la compétence ovocytaire. L'une des premières démonstrations d'un impact de médiateurs de l'inflammation sur la maturation ovocytaire a consisté à ajouter des PGF2 α ou du TNF α au milieu de culture durant la phase de maturation, conduisant à observer une réduction du pourcentage de blastocystes formés (Soto *et al.*, 2003a, 2003b).

Une seconde approche a été employée pour étudier l'effet des mammites sur cette fonction ovarienne. Celle-ci a constitué à utiliser le fluide folliculaire issu de vaches à mammites comme milieu de maturation de l'ovocyte. Ces fluides folliculaires ont, selon les études, été obtenus à partir de vaches présentant une mammite clinique aiguë induite par des toxines de bactéries Gram positif ou Gram négatif, ainsi qu'à partir de vaches présentant des mammites cliniques ou subcliniques (Asaf *et al.*, 2014 ; Roth *et al.*, 2015). Ces deux études ont mis en évidence une moindre maturation et une réduction du taux de clivage et de formation de blastocystes lorsque les ovocytes étaient incubés avec ces liquides folliculaires. Les mammites subcliniques induites expérimentalement par de faibles doses répétées de bactéries Gram positif et Gram négatif augmentaient la proportion d'ovocytes apoptotiques et diminuaient la maturation du cytoplasme de l'ovocyte, mais pas du noyau (Roth *et al.*, 2015). Les mammites cliniques aiguës induites par l'administration intramammaire de LPS conduisaient à un impact sur la maturation cytoplasmique et nucléaire, alors qu'aucune détérioration de maturation n'était observée lorsque des exosécrétions de *S aureus* étaient utilisées pour induire une mammite (Asaf *et al.*, 2014).

Enfin l'influence des mammites sur la maturation ovocytaire a également été étudiée sur des ovocytes collectés pour la production *in vitro* d'embryons, ovocytes collectés sur des vaches présentant des mammites « de terrain » (les cas étant définis sur la base de comptages cellulaires individuels et d'exams bactériologiques réalisés dans les trois mois précédant la collecte d'ovocytes) (Roth *et al.*, 2013). La proportion d'ovocytes conduisant à la production de blastocystes était plus faible chez les vaches présentant une mammite dans les trois mois précédant la collecte que chez les vaches saines. Cette étude a confirmé, en condition « terrain », que les mammites tant cliniques que subcliniques altèrent la compétence ovocytaire mais également que le pool d'ovocytes au stade de vésicule germinale sont sensibles aux effets de la maladie (Roth *et al.*, 2013).

3.2.2.2. Influence de l'inflammation sur le corps jaune

Si les mammites peuvent conduire à une altération des fonctions des follicules préovulatoires, ces perturbations pourraient également conduire à une altération du corps jaune formé par la suite. En effet, le TNF α et l'IFN γ sont tous deux connus pour être cytotoxiques pour les cellules lutéales bovines (Fairchild et Pate, 1991; Petroff *et al.*, 2001). Plusieurs études ont exploré cette hypothèse, conduisant à estimer que les effets des mammites sur le corps jaune et son fonctionnement sont variables.

L'impact des mammites cliniques associées à la présence de LPS sur les corps jaunes semble modéré : si une diminution de la concentration en progestérone plasmatique (Giri *et al.*, 1990) et une diminution de la taille du corps jaune (Herzog *et al.*, 2012) sont observées lors de l'administration de LPS par voie intraveineuse, ces effets ne sont pas retrouvés lorsque les LPS sont administrés plus classiquement, dans les modèles expérimentaux de mammite, par voie intramammaire (Lüttgenau *et al.*, 2016b). De la même manière, l'effet des mammites à Gram positif paraît variable. Dans un modèle d'infection mammaire expérimentale avec *Streptococcus uberis* chez la vache, aucune altération des concentrations en progestérone n'a été observée (Hockett *et al.*, 2000) alors que, chez la brebis, l'administration intraveineuse de concentrations élevées de toxines de streptocoques conduit à une diminution de la progestéronémie (Battaglia *et al.*, 2000 ; Stewart *et al.*, 2003).

L'effet sur le corps jaune des mammites survenant naturellement est également variable selon les études. Certaines études révèlent ainsi que les vaches atteintes de mammites cliniques présentaient des intervalles entre chaleurs altérés de manière plus fréquente que les vaches non atteintes (Moore *et al.*, 1991). De la même manière les vaches présentant une mammite de grade 2 ou 3 et pour lesquelles une bactérie Gram négatif était isolée présentaient des phases lutéales plus courtes, secondaires à une lutéolyse précoce (Huszenicza *et al.*, 2005). Néanmoins ces résultats n'ont pas été confirmés par d'autres études : ainsi une faible corrélation était observée entre des cas de mammites de grade élevé à *E. coli* et la présence d'intervalles entre œstrus diminués, les concentrations en progestérone ne variant pas entre les animaux atteints de mammites et les animaux sains (Roth et Wolfenson, 2016). De plus les mammites subcliniques ne semblaient pas être une cause importante de lutéolyse, la progestéronémie étant équivalente entre des vaches saines et des vaches présentant des concentrations cellulaires somatiques élevées dans le lait (Morris *et al.*, 2013).

Les différences observées entre ces études pourraient être liées à la méthodologie d'induction des mammites (toxines variables ; bactéries variables) et entre l'effet de mammites cliniques et subcliniques. Il est au bilan probable que l'effet des mammites sur le corps jaune soit faible, suggérant que les effets sur la fertilité de cette inflammation, lorsqu'elle intervient après l'insémination, reposent sur un impact sur l'embryon plutôt que sur le corps jaune.

3.2.3. Influence des mammites sur la fonction utérine

Comme évoqué précédemment, la synthèse par l'endomètre des prostaglandines est sous le contrôle de certaines cytokines telles que TNF- α et IL-1 β . TNF- α conduit à une augmentation de la sécrétion de PGF2 α lorsque celui-ci est ajouté à des cultures de cellules du stroma endométrial de bovin alors qu'IL-1 β est à l'origine d'une augmentation de la sécrétion de PGF2 α et de PGE2 par les cellules de l'endomètre et par les cellules épithéliales (Hansen *et al.*, 2004). Il est par conséquent possible d'imaginer que la libération de cytokines dans la circulation sanguine lors de mammité conduit à une augmentation de la production par l'endomètre de PGF2 α . Ainsi, des vaches présentant une mammité à *Streptococcus uberis* présentaient une augmentation plus importante de la concentration en PGFM circulant en réponse à un traitement à l'ocytocine par rapport à des vaches non atteintes de mammité (Hockett *et al.*, 2000).

Les cytokines inflammatoires pourraient également exercer d'autres effets sur l'endomètre ou sur l'oviducte qui pourraient limiter le développement de l'embryon (Hansen *et al.*, 2004). Ainsi IL-1 β conduit à une réduction de la prolifération des cellules stromales endométriales (Davidson *et al.*, 1995), alors que le TNF- α conduit à une moindre prolifération des cellules épithéliales de l'oviducte (Kamwanja et Hansen, 1993). Néanmoins ces hypothèses n'ont pas été vérifiées lors de mammites bovines.

3.2.4. Influence des mammites sur l'embryon

En 2005, Hill et Gilbert ont démontré que l'inflammation seule, sans présence bactérienne, conduisait à une inhibition du développement de l'embryon (Hill et Gilbert, 2008). Une inflammation endométriale était créée en injectant dans l'utérus de vaches un milieu de culture pour embryon, additionné ou non de glycoprotéines d'huitres (cette protéine conduisant à une inflammation de l'endomètre). Dans un second temps, ces milieux étaient collectés et utilisés pour la culture d'embryons. Le taux de développement des embryons à 48 heures était significativement inférieur pour les embryons cultivés dans les milieux issus de vaches avec une inflammation de l'endomètre par rapport à ceux issus de vaches sans inflammation (Hill et Gilbert, 2008).

Comme abordé précédemment, les mammites sont associées à une production de nombreux médiateurs de l'inflammation. Parmi ces molécules, le TNF- α , le NO et les PGF2 α peuvent exercer un effet sur le développement de l'embryon. Ainsi Soto et ses collègues (Soto *et al.*, 2003a) ont démontré que l'addition de TNF- α avant fécondation à des cultures d'ovocytes bovins mûrissant *in vitro* conduisait à une réduction de la proportion d'ovocytes devenant blastocystes après fécondation. L'addition de TNF- α dans le milieu de culture d'embryons bovins (donc après fécondation) augmentait par ailleurs la proportion de blastomères apoptotiques lorsque le TNF- α était ajouté aux embryons cinq jours après la fécondation (Soto *et al.*, 2003a).

Les prostaglandines F2 α sont connues depuis longtemps pour exercer un effet négatif sur le développement embryonnaire chez les bovins. Ainsi l'administration de PGF2 α à des vaches recevant une supplémentation en progestérone conduit à dégrader le développement embryonnaire et à diminuer le taux de gestation (Seals *et al.*, 1998). Le retrait du corps jaune conduit à une diminution des effets embryotoxiques des PGF2 α (Buford *et al.*, 1996), laissant certains auteurs émettre l'hypothèse que les PGF2 α induiraient la sécrétion d'une molécule embryotoxique d'origine lutéale, ou que les PGF2 α bloqueraient directement le développement de l'embryon (Hansen *et al.*, 2004).

L'oxyde nitrique est également associé à une mortalité embryonnaire précoce. Ainsi, la culture d'embryons bovins avec un précurseur du NO conduit à une inhibition du développement

embryonnaire au stade blastocystes (Soto *et al.*, 2003b). Cet effet toxique pourrait être secondaire à une interaction entre le NO et l'O₂⁻ pour former l'oxydant peroxy nitrite.

Les effets des médiateurs de l'inflammation cités précédemment ont été mis en évidence dans le cadre d'étude *in vitro*. Il n'est pas actuellement connu si les mammites rencontrées sur le terrain sont associées à une augmentation de la synthèse de PGF2 α et de NO dans l'appareil reproducteur. Il est cependant possible que ceci soit le cas car la synthèse de ces molécules est régulée entre autres par des cytokines. Ainsi TNF- α , dont la concentration sanguine augmente dans le sang lors de mammite, peut conduire à une augmentation de la synthèse de PGF2 α au niveau endométrial (Skarzynski *et al.*, 2000). De même, IL-1 α peut également induire la sécrétion endométriale de PGF2 α (Davidson *et al.*, 1995). Enfin les molécules pouvant induire la NO synthase sont l'IFN- γ , le TNF- α , le LPS et les PGF2 α (Perez Martinez *et al.*, 1998).

3.2.5. Corrélation génétique entre mammite et fertilité

La fertilité des vaches laitières s'est, au cours des dernières années, détériorée puis stabilisée suite à l'introduction de taureaux présentant des index améliorateurs de la fertilité. La génétique joue un rôle très important dans la fertilité des bovins (Snijders *et al.*, 2000). Depuis plusieurs années, une corrélation génétique défavorable entre le niveau de production et les performances de reproduction est connue. Des index génétiques « mammites » existent également. Il est donc possible de se poser la question de savoir si ces index sont corrélés ou non.

Au cours des dernières décennies, plusieurs études ont analysé la relation entre la fertilité et d'autres paramètres de la santé, notamment les mammites. Il a ainsi été rapporté que de degré de corrélation génétique estimé entre les mammites cliniques et l'intervalle vêlage-vêlage, le nombre d'IA par gestation, le taux de gestation et l'intervalle vêlage-première insémination étaient respectivement de 0,28 ; 0,41 ; -0,21 et 0,32 (Kadarmideen *et al.*, 2000). Une autre étude a rapporté une corrélation génétique de -0,58 entre mammites cliniques et taux de gestation, et de 0,29 avec l'intervalle vêlage-vêlage (Heringstad *et al.*, 2006). Une relation génétique entre mammite et fertilité peut être suspectée, les vaches à mammites tendant à avoir un taux de conception plus faible et un intervalle vêlage-vêlage plus élevé.

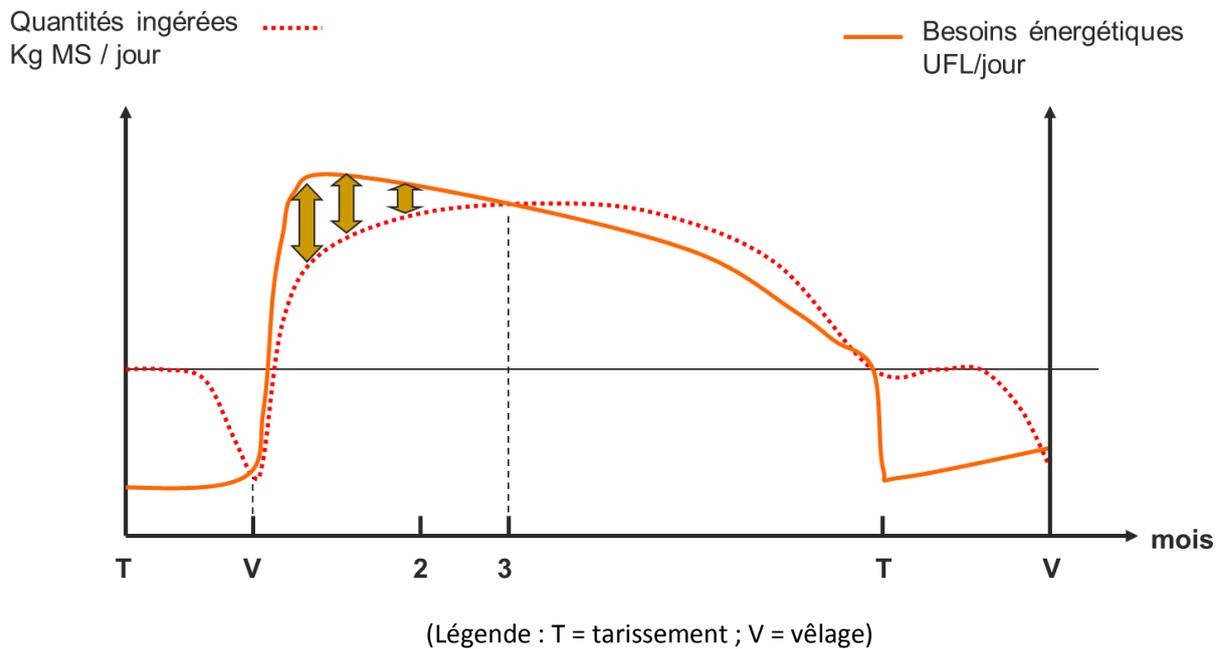
3.2.6. Influence des mammites sur les affections métaboliques ?

Une dernière hypothèse permettant de lier mammites et altération de la fertilité impliquerait l'impact des mammites sur la prise alimentaire. Comme nous l'avons abordé dans la première partie de ce manuscrit, plusieurs études, tant expérimentales que terrains, ont mis en évidence une baisse de l'ingestion chez les vaches atteintes de mammites, diminution observée sur une période s'étendant de plusieurs jours avant l'apparition des signes cliniques jusqu'à plusieurs jours après la fin du traitement antibiotique (Fogsgaard *et al.*, 2015).

La vache en péripartum est soumise physiologiquement à un déficit énergétique, la demande en glucose (nécessaire pour la synthèse de lactose et par la même conditionnant le niveau de production laitière) est maximale alors que la consommation est alors insuffisante (Figure 18). Ce déséquilibre entre ingestion et besoin énergétique conduit à un déficit énergétique chez la vache en péripartum, pouvant dans certains cas conduire à un déficit énergétique pathologique à l'origine d'une acétonémie. La cétose subclinique est une affection métabolique dont l'impact sur la reproduction de la vache est très marqué. Une méta-analyse de 2014 montre un allongement moyen de huit jours de l'intervalle vêlage-première insémination, et un allongement moyen de 16 à 22 jours de l'intervalle vêlage-insémination fécondante (Raboisson *et al.*, 2014). L'impact du déficit énergétique et de l'augmentation de la concentration plasmatique des acides gras non estérifiés sur

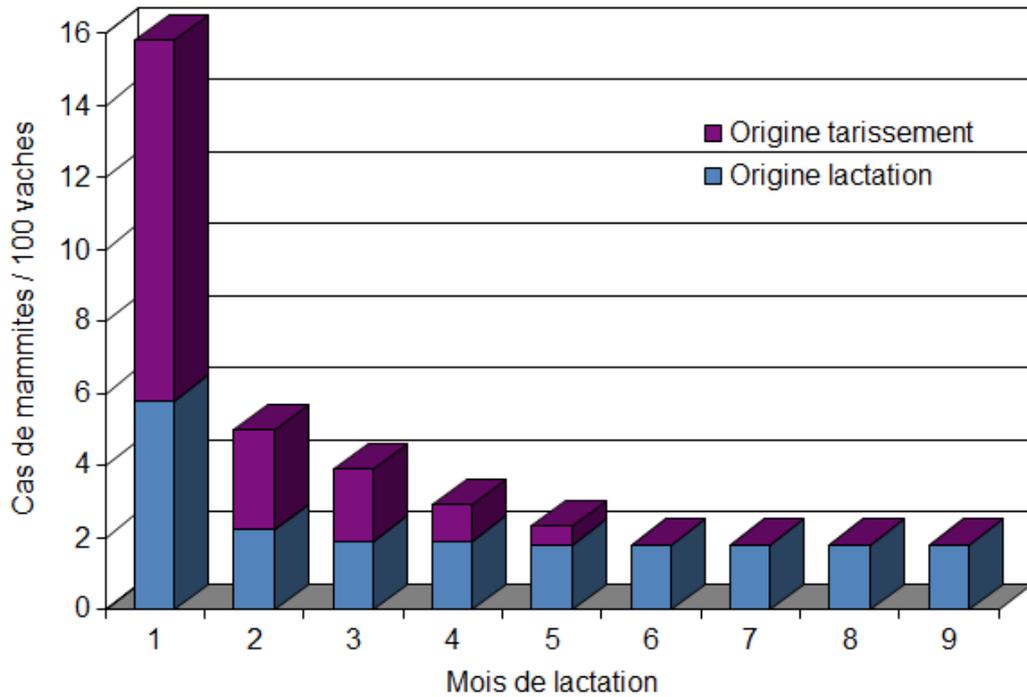
la qualité des ovocytes peut également être constaté plusieurs semaines après le moment de survenue du déficit énergétique (Van Hoeck *et al.*, 2014).

Figure 18 : Evolution de la consommation volontaire en matière sèche (en kg MS/jour) et des besoins énergétiques en fonction du temps chez la vache laitière



Les mammites en début de lactation sont fréquentes chez la vache laitière (Figure 19) (Green *et al.*, 2002). La baisse d'ingestion observée durant près de 15 jours lors de mammité clinique (Fogsgaard *et al.*, 2015) peut favoriser le déficit énergétique observé en début de lactation, moment où l'animal présente déjà une ingestion limitée. Si aucune étude ne s'est jusqu'à maintenant attachée à mettre en évidence un lien de cause à effet entre mammité et acétonémie (l'acétonémie subclinique est considérée comme un facteur de risque de mammité par la baisse d'immunité qu'elle induit), il paraît cohérent de supposer que les mammites cliniques peuvent favoriser l'infertilité en aggravant le déficit énergétique. Néanmoins, l'impact des mammites sur l'acétonémie est vraisemblablement moindre que celui de la gestion alimentaire des vaches durant la période sèche et le début de lactation.

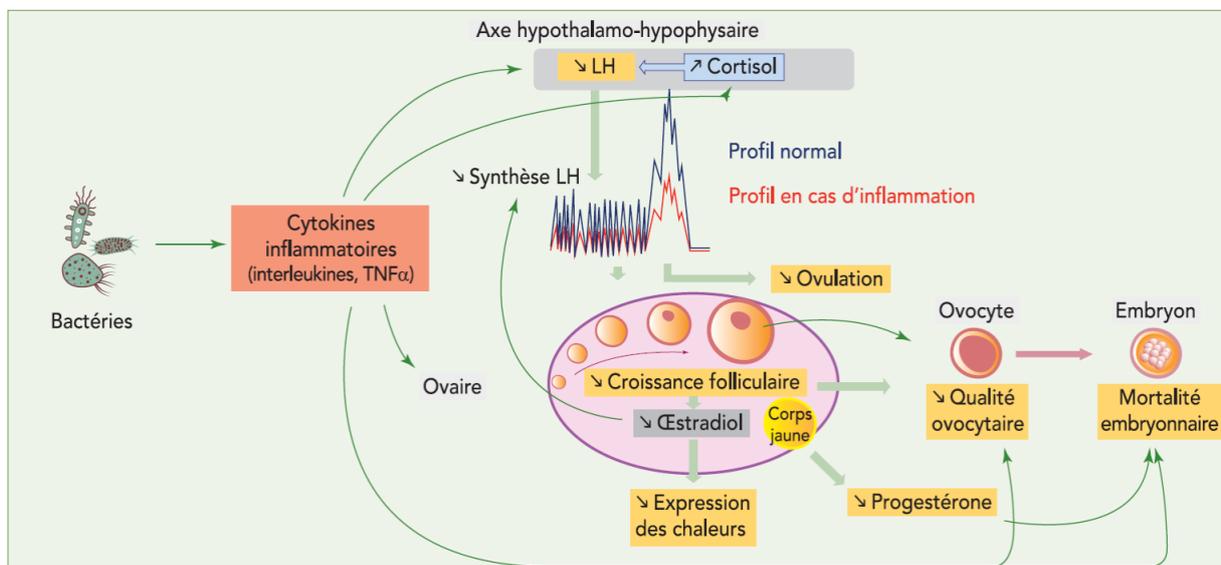
Figure 19 : Incidence des mammites en fonction du mois de lactation (d'après (Green *et al.*, 2002))



3.2.7. Synthèse

Au bilan les mammites peuvent perturber plusieurs étapes du processus de reproduction. La Figure 20 fait la synthèse des différents leviers d'action possible de l'inflammation mammaire sur la reproduction de la vache (Chastant-Maillard, 2016).

Figure 20 : Schéma de synthèse (d'après Chastant-Maillard, 2016)



3.3. Etude des effets d'un traitement anti-inflammatoire sur la fertilité des vaches

Comme nous l'avons abordé dans la première partie de ce manuscrit au paragraphe 1.5, des effets bénéfiques peuvent être attendus suite à l'administration systématique d'un traitement anti-inflammatoire en complément de l'antibiothérapie lors de mammites. En raison des multiples preuves d'un impact de l'inflammation mammaire sur la reproduction de la vache, l'hypothèse d'un effet bénéfique d'un traitement AINS lors de mammites sur la fertilité des vaches a été émise. Etonnement, très peu d'études évaluant l'effet d'un traitement anti-inflammatoire stéroïdien ou non stéroïdien sur la fertilité sont disponibles dans la littérature. Seule une étude s'est intéressée à cette problématique.

Une étude récemment réalisée dans six pays européens (France, Belgique, Italie, Espagne, Pays-Bas et Royaume Uni) s'est attachée à analyser l'effet d'un anti-inflammatoire non stéroïdien principalement orienté contre la COX-2, le méloxicam, en complément d'un traitement antibiotique intramammaire sur les performances de reproduction de la vache (McDougall *et al.*, 2016). Les 509 animaux inclus dans l'étude provenaient de huit régions différentes, et étaient issus de 61 élevages de plus de 50 vaches. Toutes les vaches incluses ont présenté un épisode de mammite clinique d'intensité modérée (grade 1 ou 2) au cours des quatre premiers mois de lactation (les cas de mammites de grade 3 ont été exclus de l'étude). Les animaux inclus dans l'étude recevaient, lors de la détection de la mammite, un traitement intramammaire à base de céfalexine (200 mg) et de kanamycine (100 000 UI). Après tirage au sort, la moitié des vaches recevaient une injection sous-cutanée de méloxicam à la posologie de 0,5 mg/kg (lot traité) alors que l'autre moitié recevait une injection de l'excipient de la solution de méloxicam (lot témoin), de sorte à ce que l'opérateur ne puisse pas savoir le traitement réalisé. Une fois ce traitement de première intention mis en œuvre les animaux pouvaient, à la discrétion de l'éleveur, recevoir un nouveau traitement si celui-ci l'estimait nécessaire. Ces traitements supplémentaires étaient enregistrés systématiquement. La mise à la reproduction était par la suite réalisée selon les critères habituels de l'élevage, et la gestation contrôlée entre 26 et 270 jours après l'insémination. Les deux lots étaient comparables (âge, température rectale, aspect du lait, taux cellulaires du lait, résultats d'examen bactériologique).

Cette étude a permis d'aboutir aux résultats suivants :

- **Effet du traitement AINS sur le nombre d'inséminations par insémination fécondante chez les vaches atteintes de mammites :**

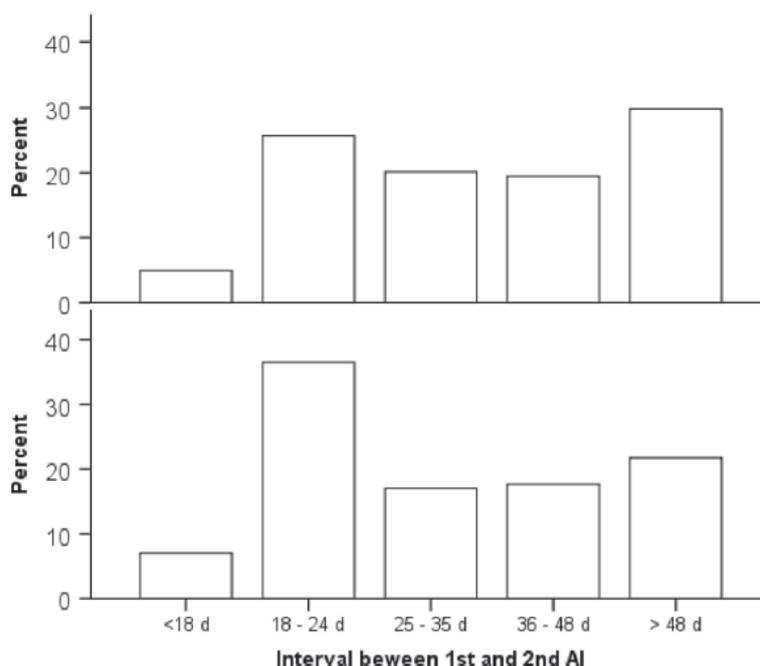
Globalement les vaches du lot traité au méloxicam ont été moins souvent inséminées que les animaux du lot témoin (respectivement 2,46 [2,20-2,72] contre 2,7 [2,45-2,96], $P = 0,04$). Parmi les vaches dont la gestation a été confirmée, le nombre d'inséminations pour obtenir une IA fécondante était significativement plus faible chez les vaches traitées au méloxicam (2,43 [2,17-2,69] contre 2,92 [2,65-3,19], $P = 0,009$).

- **Effet du traitement AINS sur le taux de réussite à l'IA chez les vaches atteintes de mammites :**

Le taux de réussite en 1^{ère} IA était de 33 % pour le lot méloxicam et de 24 % pour le lot témoin ($p = 0,02$; 442 vaches) (Tableau 8). Afin d'expliquer cette différence, un biais potentiel aurait pu être une différence entre les deux lots de l'intervalle entre le vêlage et la 1^{ère} IA (variation du taux de réussite selon le moment d'insémination). Cependant le délai entre le vêlage et la 1^{ère} IA était similaire dans les deux populations (77 jours dans le lot méloxicam ; 78 jours dans le lot témoin), suggérant que la différence observée pour le TRIA1, n'était pas liée à une valeur de l'IVIA1 différente. De la même manière, le taux de réussite en 2^{nde} et 3^{ème} IA était numériquement supérieur dans le lot méloxicam que dans le lot témoin (+ 4 points en IA₂, + 10 points en IA₃). Néanmoins le nombre de vaches dans chacune de ces catégories (314 en IA₂ ; 203 en IA₃) n'était pas suffisant pour mettre en évidence une différence significative.

De plus, la proportion de vaches présentant un intervalle interœstrus compris entre 18 et 24 jours entre l'IA₁ et l'IA₂ était plus faible chez les animaux du lot traité au méloxicam ($P = 0,04$) (Figure 21).

Figure 21 : Répartition des intervalles entre la première et la seconde insémination artificielle en fonction du groupe (lot traité au méloxicam en haut de la figure ; lot témoin en bas de la figure) (McDougall *et al.*, 2016)



- **Effet du traitement AINS sur le taux de gestation chez les vaches atteintes de mammites :**

La proportion de vaches gravides 120 jours après le vêlage était supérieure dans le lot méloxicam par rapport au lot témoin ($P = 0,05$). Cette différence, toujours numériquement présente à 200 jours post-partum, n'était alors plus significative. A 300 jours post-partum le taux de gestation était identique entre les deux lots (

Figure 22 et Tableau 8). Les vaches ayant été atteintes de mammites avant la première insémination étaient gestantes plus tardivement que celles dont le diagnostic de mammite était posé après la première insémination.

Figure 22 : Probabilité cumulée de non gestation pour des vaches atteintes de mammites cliniques de grade 1 ou 2 traitées par antibiothérapie intramammaire et traitées ou non avec du méloxicam (d'après (McDougall *et al.*, 2016))

Légende : courbe pleine : lot traité au méloxicam ; courbe en pointillé : lot témoin

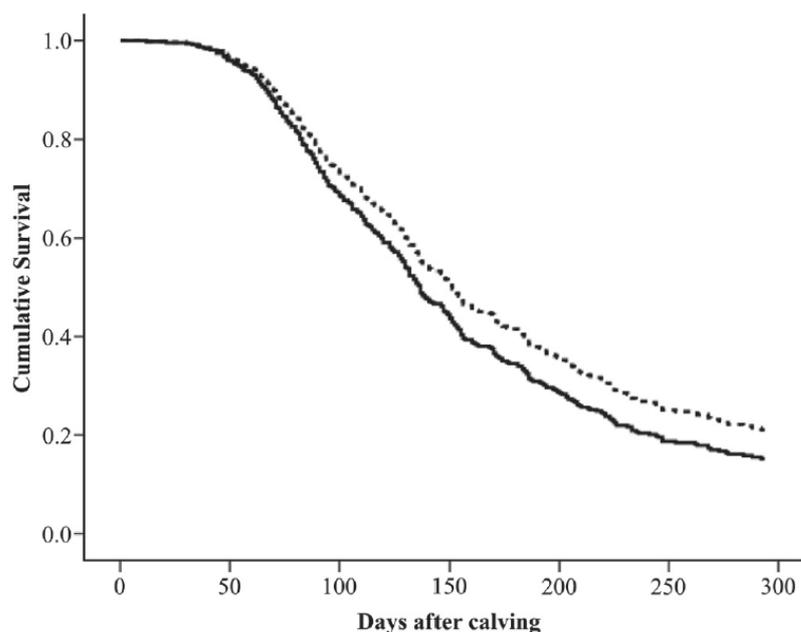
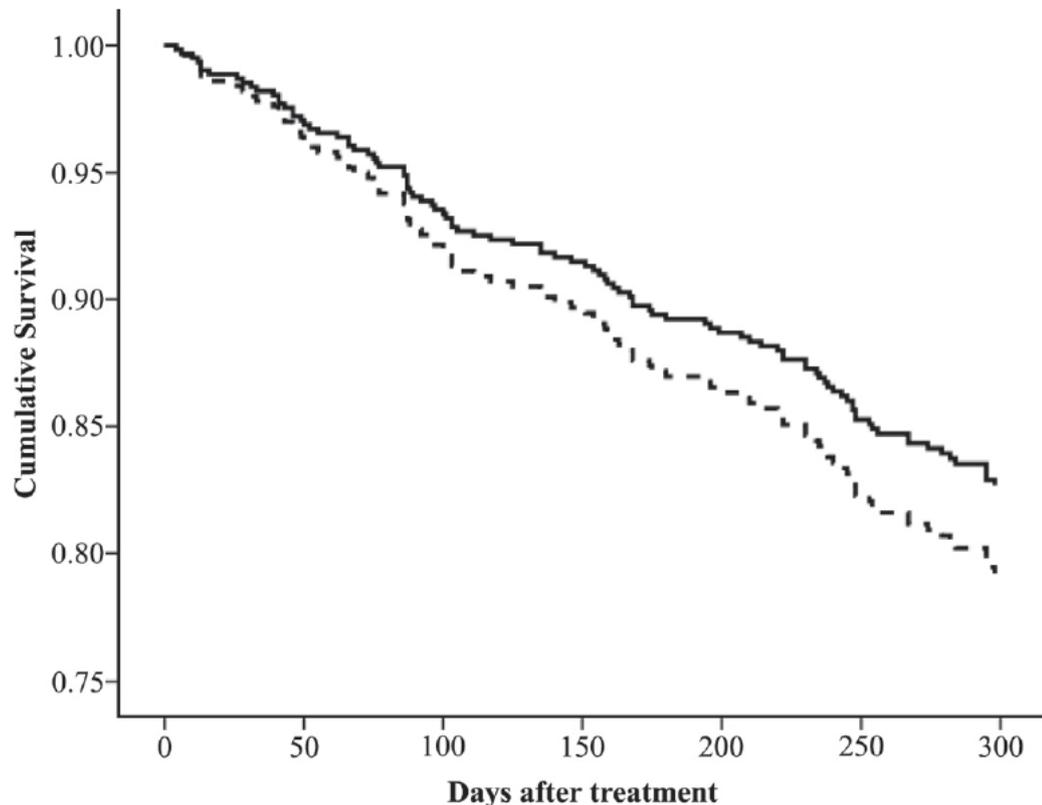


Tableau 8 : Impact d'un traitement anti-inflammatoire à base de méloxicam lors de mammites de faible grade sur les principaux indicateurs de la reproduction (McDougall *et al.*, 2016)

Paramètre	Lot méloxicam	Lot témoin	Significativité
Taux de réussite en IA1	33%	24%	RR = 1,68 P=0,02
Taux de réussite en IA2	32%	28%	Non significatif
Taux de réussite en IA3	35%	25%	Non significatif
Taux de gestation à 120 jours post partum	42%	33%	P=0,05
Taux de gestation à 200 jours post partum	65%	60%	Non significatif
Taux de gestation final	86%	88%	Non significatif
Nombre d'IA par IAF (toutes les vaches)	2,46	2,7	P=0,04
Nombre d'IA par IAF (vaches gravides)	2,43	2,92	P=0,009
IVIA1	77 [73-81]	78 [75-81]	Non significatif
IVIAF	132 [122-142]	154 [136-172]	Non significatif

Au bilan la probabilité de sortie du troupeau (mort, réforme, etc.) n'était pas différente au cours des 300 jours suivant le vêlage entre les deux lots de cette étude (McDougall *et al.*, 2016) (Figure 23), contrairement aux résultats obtenus par la même équipe quelques années plus tôt (McDougall *et al.*, 2009).

Figure 23 : Probabilité cumulée de sortie du troupeau pour des vaches atteintes de mammites cliniques de grade 1 ou 2 traitées par antibiothérapie intramammaire et traitées ou non avec du méloxican (d'après (McDougall *et al.*, 2016))



Légende : courbe pleine : lot traité au méloxican ; courbe en pointillé : lot témoin

Les effets sur la fertilité des vaches de la réalisation d'un traitement AINS en complément du traitement antibiotique lors de mammite apparaissent intéressants. Cependant la question de l'intérêt économique, essentielle en production animale, peut se poser. Une étude complémentaire, se basant sur les effets bénéfiques sur la reproduction des vaches laitières du méloxican dans le traitement des mammites cliniques (en complément d'un traitement antibiotique), a exploré le bénéfice économique éventuel associé à cette observation (van Soest *et al.*, 2016). Un modèle de simulation dynamique stochastique (fondé et modifié sur des modèles développés par l'équipe d'Inchaisri en 2010 (Inchaisri *et al.*, 2010) et en 2014 (Rutten *et al.*, 2014)) a été développé. Ce modèle permet la simulation de la lactation d'une vache laitière en étapes hebdomadaires, pour lesquelles tous les événements pouvant intervenir sont intégrés et simulés (c'est-à-dire la production laitière, les performances de reproduction et la sortie du troupeau). Ce modèle permet également la simulation de la dynamique des cas cliniques de mammites de grade 1 et 2 au cours des 120 premiers jours de lactation à chaque itération du modèle. Deux scénarios ont été étudiés : un

premier où un traitement à base de méloxicam était réalisé en combinaison avec le traitement antibiotique et un second où seul un traitement antibiotique était réalisé. Dans le cadre du premier scénario un taux de conception de 31 % a été retenu, alors qu'un taux de 21 % était retenu pour le second scénario sur la base des données présentées précédemment (McDougall *et al.*, 2016). L'effet de cette différence dans le taux de conception sur le niveau de production laitière, la consommation alimentaire, la reproduction, la sortie du troupeau et sur l'éventuel bénéfice économique net (chiffre d'affaire dans le scénario « traitement méloxicam » - chiffre d'affaire dans le scénario « témoin ») a été simulé. Les postes de coûts et de bénéfices étaient rapportés, afin d'être comparables, en euros par cas clinique de mammite et par an.

Les résultats du modèle ont montré un bénéfice économique net de 42 € par cas clinique par an en faveur du scénario « méloxicam » (Tableau 9). En effet, et bien que les vaches dans le scénario sans méloxicam aient présenté un retour plus rapide au tank et des coûts de traitement plus faibles, ces gains n'ont pas permis de contrebalancer ceux observés dans le scénario « méloxicam », gains liés à un coût alimentaire plus faible durant la lactation (lactation plus courte), un coût des inséminations moindre (moins d'IA pour aboutir à une gestation) et à un nombre d'animaux réformés pour cause d'infertilité et pour mammite plus faible. La différence d'impact économique entre les deux scénarios étaient la conséquence de meilleures performances de reproduction dans le scénario méloxicam, pour lequel l'intervalle vêlage – insémination fécondante était réduit (132 vs 144 jours) et l'intervalle vêlage-vêlage (412 vs 424 jours) était plus court par rapport au scénario sans méloxicam, et pour lequel le nombre d'IA par gestation était plus faible (2,9 vs 3,7). La lactation dans le scénario méloxicam était plus courte (en raison d'une fécondation plus précoce), avec une production totale sur la lactation totale plus faible (8441 vs 8523 kg) mais avec un coût alimentaire plus faible dans le groupe méloxicam. De plus le plus faible taux de réforme dans le scénario méloxicam conduisait à un plus faible coût de remplacement. Les auteurs concluent à l'intérêt économique de cette stratégie de traitement dans la plupart des systèmes de production.

Tableau 9 : Résultats économiques (facteurs de coûts, flux de trésorerie et bénéfice économique net) pour un cas moyen de mammite clinique avec ou sans traitement complémentaire avec le méloxicam (les 5^{ème} et 95^{ème} centiles sont présentés entre parenthèses). D'après (van Soest *et al.*, 2016)

	Scénario avec traitement méloxicam	Scénario sans traitement méloxicam	Bénéfice économique net
Production laitière	2520 € (1967 € - 3194 €)	2562 € (1965 € - 3294 €)	-42 € (3 € - 103 €)
Coût alimentaire	-931 € (-1067 € - -812 €)	-935 € (-1075 € - -810 €)	3 € (9 € - -3 €)
Insémination	-80 € (-207 € - -29 €)	-103 € (-243 € - -30 €)	24 € (37 € - 1 €)
Vêlage	-42 € (-58 € - 0 €)	-35 € (-56 € - 0 €)	-7 € (-1 € - 0 €)
Traitement des cas de mammite clinique	-46 € (-56 € - -34 €)	-32 € (-41 € - -23 €)	-14 € (-11 € - -16 €)
Remplacement animaux réformés	-78 € (-699 € - 0 €)	-157 € (-824 € - 0 €)	79 € (125 € - 0 €)
Flux de trésorerie	1343 € (957 € - 1796 €)	1300 € (947 € - 1768 €)	42 € (10 € - 28 €)

CONCLUSION

Les mammites bovines et les troubles de la fertilité constituent les plus importantes affections des cheptels bovins laitiers. Un lien entre ces deux entités a été étudié au cours des dernières décennies, mettant en évidence un impact des mammites sur la fertilité bovine. Ainsi, l'inflammation générée par cette infection mammaire impacte le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique, de la fonction ovarienne et de la maturation ovocytaire, favorise la production de prostaglandines au niveau endométrial et exerce un effet direct sur l'embryon. A l'heure actuelle, l'administration systématique d'anti-inflammatoires lors de mammites bovines n'est pas la norme, ceux-ci étant généralement réservés aux cas de mammites cliniques les plus graves (en dépit des études mettant en avant son intérêt clinique). Or, cette infection mammaire, outre son impact sur la fertilité, conduit également au développement d'une douleur et donc affecte également le bien-être des bovins atteints.

Ce travail propose une synthèse bibliographique des données actuelles de la science sur le lien entre mammites et fertilité. Par la suite, l'intérêt d'un traitement anti-inflammatoire lors de la mammite sur la fertilité est présenté. Dans ce contexte, une étude récente a mis en évidence un intérêt de l'adjonction d'un traitement AINS lors de mammite bovine de grade faible sur le nombre d'IA permettant d'obtenir une gestation ; sur le taux de réussite en 1^{ère} IA ; sur la proportion de vaches gravides 120 jours après IA. Ce traitement AINS systématique conduit à un gain économique pour l'éleveur, en améliorant les performances de reproduction de son troupeau.

BIBLIOGRAPHIE

- Ahmadzadeh, A., Frago, F., Shafii, B., Dalton, J.C., Price, W.J., McGuire, M.A., 2009. Effect of clinical mastitis and other diseases on reproductive performance of Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 112, 273–282. doi:10.1016/j.anireprosci.2008.04.024
- Albaaj, A., Foucras, G., Raboisson, D., 2017. High somatic cell counts and changes in milk fat and protein contents around insemination are negatively associated with conception in dairy cows. *Theriogenology* 88, 18–27. doi:10.1016/j.theriogenology.2016.09.043
- Almeida, R.A., Matthews, K.R., Cifrian, E., Guidry, A.J., Oliver, S.P., 1996. Staphylococcus aureus invasion of bovine mammary epithelial cells. *J. Dairy Sci.* 79, 1021–1026. doi:10.3168/jds.S0022-0302(96)76454-8
- Alpizar, E., Spicer, L.J., 1994. Effects of interleukin-6 on proliferation and follicle-stimulating hormone-induced estradiol production by bovine granulosa cells in vitro: dependence on size of follicle. *Biol. Reprod.* 50, 38–43.
- Alves, A.C., Capra, E., Morandi, S., Cremonesi, P., Pantoja, J.C.F., Langoni, H., de Vargas, A.P.C., da Costa, M.M., Jagielski, T., Bolaños, C. a. D., Guerra, S.T., Ribeiro, M.G., 2017. In vitro algicidal effect of guanidine on *Prototheca zopfii* genotype 2 strains isolated from clinical and subclinical bovine mastitis. *Lett. Appl. Microbiol.* doi:10.1111/lam.12737
- Anderson, K.L., Hunt, E., 1989. Anti-inflammatory therapy in acute endotoxin-induced bovine mastitis. *Vet. Res. Commun.* 13, 17–26.
- Anderson, K.L., Smith, A.R., Shanks, R.D., Whitmore, H.L., Davis, L.E., Gustafsson, B.K., 1986. Endotoxin-induced bovine mastitis: immunoglobulins, phagocytosis, and effect of flunixin meglumine. *Am. J. Vet. Res.* 47, 2405–2410.
- Andrews, A.H., Blowey, R.W., Boyd, H., Eddy, R.G., 2008. Anatomy, Physiology and Immunology of the Udder, in: *Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle*. John Wiley & Sons.
- Asaf, S., Leitner, G., Furman, O., Lavon, Y., Kalo, D., Wolfenson, D., Roth, Z., 2014. Effects of *Escherichia coli*- and *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in lactating cows on oocyte developmental competence. *Reprod. Camb. Engl.* 147, 33–43. doi:10.1530/REP-13-0383
- Atalla, H., Gyles, C., Mallard, B., 2010. Persistence of a *Staphylococcus aureus* small colony variants (*S. aureus* SCV) within bovine mammary epithelial cells. *Vet. Microbiol.* 143, 319–328. doi:10.1016/j.vetmic.2009.11.030
- Bannerman, D.D., 2009. Pathogen-dependent induction of cytokines and other soluble inflammatory mediators during intramammary infection of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 87, 10–25. doi:10.2527/jas.2008-1187
- Bannerman, D.D., Paape, M.J., Goff, J.P., Kimura, K., Lippolis, J.D., Hope, J.C., 2004. Innate immune response to intramammary infection with *Serratia marcescens* and *Streptococcus uberis*. *Vet. Res.* 35, 681–700. doi:10.1051/vetres:2004040
- Bannerman, D.D., Springer, H.R., Paape, M.J., Kauf, A.C., Goff, J.P., 2008. Evaluation of breed-dependent differences in the innate immune responses of Holstein and Jersey cows to *Staphylococcus aureus* intramammary infection. *J. Dairy Res.* 75, 291–301. doi:10.1017/S0022029908003427
- Banting, A., Banting, S., Heinonen, K., Mustonen, K., 2008. Efficacy of oral and parenteral ketoprofen in lactating cows with endotoxin-induced acute mastitis. *Vet. Rec.* 163, 506–509.

- Barbat, A., Druet, T., Bonaiti, B., Guillaume, F., Colleau, J., Boichard, D., 2005. Bilan phénotypique de la fertilité à l'insémination artificielle dans les trois principales races laitières françaises. *Renc Rech Rumin.* 12, 137–140.
- Bardoel, B.W., Striip, J.A.G., 2011. Molecular battle between host and bacterium: recognition in innate immunity. *J. Mol. Recognit. JMR* 24, 1077–1086. doi:10.1002/jmr.1156
- Barker, A.R., Schrick, F.N., Lewis, M.J., Dowlen, H.H., Oliver, S.P., 1998. Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 81, 1285–1290. doi:10.3168/jds.S0022-0302(98)75690-5
- Barone, R., 2001. Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4, Splanchnologie II. Vigot, Paris.
- Barre, L., 1992. La mortalité embryonnaire chez la vache (Thèse de doctorat vétérinaire). Ecole nationale vétérinaire de Nantes.
- Barros, C.M., Betts, J.G., Thatcher, W.W., Hansen, P.J., 1992. Possible mechanisms for reduction of circulating concentrations of progesterone by interferon-alpha in cows: effects on hyperthermia, luteal cells, metabolism of progesterone and secretion of LH. *J. Endocrinol.* 133, 175–182.
- Battaglia, D.F., Krasa, H.B., Padmanabhan, V., Vigié, C., Karsch, F.J., 2000. Endocrine alterations that underlie endotoxin-induced disruption of the follicular phase in ewes. *Biol. Reprod.* 62, 45–53.
- Blum, J.W., Dosogne, H., Hoeben, D., Vangroenweghe, F., Hammon, H.M., Bruckmaier, R.M., Burvenich, C., 2000. Tumor necrosis factor-alpha and nitrite/nitrate responses during acute mastitis induced by *Escherichia coli* infection and endotoxin in dairy cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 19, 223–235.
- Boichard, D., Barbat, A., Briend, M., 2002. Bilan phénotypique de la fertilité chez les bovins laitiers, in: *Reproduction Génétique et Performances*. AERA Ed., Lyon, France, pp. 5–9.
- Bosquet, G., Faroult, B., Labbé, J.-F., Le Page, P., Sérieys, F., 2013. Traitement des mammites bovines - Référentiel vétérinaire 2013. Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires, Paris, France.
- Bradford, B.J., Yuan, K., Farney, J.K., Mamedova, L.K., Carpenter, A.J., 2015. Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *J. Dairy Sci.* 98, 6631–6650. doi:10.3168/jds.2015-9683
- Brightbill, H.D., Modlin, R.L., 2000. Toll-like receptors: molecular mechanisms of the mammalian immune response. *Immunology* 101, 1–10.
- Brown, A.C., Powell, J.G., Kegley, E.B., Gadberry, M.S., Reynolds, J.L., Hughes, H.D., Carroll, J.A., Burdick Sanchez, N.C., Thaxton, Y.V., Backes, E.A., Richeson, J.T., 2015. Effect of castration timing and oral meloxicam administration on growth performance, inflammation, behavior, and carcass quality of beef calves. *J. Anim. Sci.* 93, 2460–2470. doi:10.2527/jas.2014-8695
- Buford, W.I., Ahmad, N., Schrick, F.N., Butcher, R.L., Lewis, P.E., Inskeep, E.K., 1996. Embryotoxicity of a regressing corpus luteum in beef cows supplemented with progestogen. *Biol. Reprod.* 54, 531–537.
- Burton, J.L., Erskine, R.J., 2003. Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 19, 1–45, v.
- Butler, W.R., 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61, 449–457.

- Calvinho, L.F., Almeida, R.A., Oliver, S.P., 1998. Potential virulence factors of *Streptococcus dysgalactiae* associated with bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 61, 93–110.
- Casida, L.E., 1961. Present Status of the Repeat-Breeder Cow Problem. *J. Dairy Sci.* 44, 2323–2329. doi:10.3168/jds.S0022-0302(61)90063-7
- Chastant-Maillard, S., 2016. Mammmites et performances de reproduction chez la vache. *Nouv. Prat. Vét. Élev. Santé* 9, 1–12.
- Chastant-Maillard, S., Fournier, R., Remmy, D., 2005. Les vagues folliculaires : conséquences sur la reproduction de la vache allaitante.
- Chuiton, A., 2017. Exploration de la relation entre les performances de reproduction et la note évaluant le bien-être en élevage bovin laitier (Thèse de doctorat vétérinaire). Ecole nationale vétérinaire d'Alfort.
- Coetzee, J.F., 2013. A review of analgesic compounds used in food animals in the United States. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 29, 11–28. doi:10.1016/j.cvfa.2012.11.008
- Craven, N. (AFRC I. for R. on A.D., 1985. Do rising fat-globules assist microbial invasion via the teat duct between milking? *Kiel. Milchwirtsch. Forschungsberichte Ger. FR.*
- Darwash, A.O., Lamming, G.E., Woolliams, J.A., 1997. Estimation of genetic variation in the interval from calving to postpartum ovulation of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 1227–1234. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76051-X
- Davidson, J.A., Tiemann, U., Betts, J.G., Hansen, P.J., 1995. DNA synthesis and prostaglandin secretion by bovine endometrial cells as regulated by interleukin-1. *Reprod. Fertil. Dev.* 7, 1037–1043.
- de Vargas, A.C., Lazzari, A., Santurio, J.M., Alves, S.H., Ferreira, G., Kreutz, L.C., 1998. Isolation of *Prothoteca zopfii* from a case of bovine mastitis in Brazil. *Mycopathologia* 142, 135–137.
- Diskin, M.G., Mackey, D.R., Roche, J.F., Sreenan, J.M., 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 78, 345–370.
- Dransfield, M.B., Nebel, R.L., Pearson, R.E., Warnick, L.D., 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* 81, 1874–1882. doi:10.3168/jds.S0022-0302(98)75758-3
- Durel, L., Guyot, H., Theron, L., 2011. *Mammmites bovines*, 1re ed. Editions Med'Com, Paris.
- Ennuyer, M., 2000. Les vagues folliculaires chez la vache : applications pratique à la maîtrise de la reproduction. *Point Vét.* 31, 377–383.
- Erskine, R.J., Bartlett, P.C., VanLente, J.L., Phipps, C.R., 2002. Efficacy of systemic ceftiofur as a therapy for severe clinical mastitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85, 2571–2575. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74340-3
- Fairchild, D.L., Pate, J.L., 1991. Modulation of bovine luteal cell synthetic capacity by interferon-gamma. *Biol. Reprod.* 44, 357–363.
- Ferran, A., Bousquet-Melou, A., 2015. Pharmacologie des anti-inflammatoires disponibles pour les animaux de rente. *Bull. GTV* 76, 35–40.
- Fieni, F., Tainturier, D., Bruyas, J.F., Battu, I., 1995. Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache. *Bull. GTV* 4, 35–79.
- Fitzpatrick, C.E., Chapinal, N., Petersson-Wolfe, C.S., DeVries, T.J., Kelton, D.F., Duffield, T.F., Leslie, K.E., 2013. The effect of meloxicam on pain sensitivity, rumination time, and clinical signs in dairy cows with endotoxin-induced clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 96, 2847–2856. doi:10.3168/jds.2012-5855

- Fitzpatrick, J., Young, F.J., Eckersall, P., Logue, D., Knight, C., Nolan, A., 1998. Recognising and controlling pain and inflammation in mastitis, in: Proceedings of Th British Mastitis Conference. Institute for Animal Health, Stoneleigh, Coventry. West Midlands (UK), pp. 36–44.
- Fogsgaard, K.K., Bennedsgaard, T.W., Herskin, M.S., 2015. Behavioral changes in freestall-housed dairy cows with naturally occurring clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 98, 1730–1738. doi:10.3168/jds.2014-8347
- Fogsgaard, K.K., Røntved, C.M., Sørensen, P., Herskin, M.S., 2012. Sickness behavior in dairy cows during *Escherichia coli* mastitis. *J. Dairy Sci.* 95, 630–638. doi:10.3168/jds.2011-4350
- Foster, T.J., 2005. Immune evasion by staphylococci. *Nat. Rev. Microbiol.* 3, 948–958. doi:10.1038/nrmicro1289
- Fourichon, C., Seegers, H., Malher, X., 2000. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology* 53, 1729–1759.
- Fox, L.K., 2012. *Mycoplasma mastitis*: causes, transmission, and control. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 28, 225–237. doi:10.1016/j.cvfa.2012.03.007
- Freret, S., Salvetti, P., Gatien, J., Humblot, P., Ponsart, C., 2011. Facteurs de variation de la fertilité en première IA chez les vaches Prim' Holstein. *Renc Rech Rumin.* 18, 89–92.
- Fuenzalida, M.J., Fricke, P.M., Ruegg, P.L., 2015. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 98, 3791–3805. doi:10.3168/jds.2014-8997
- Garzoni, C., Kelley, W.L., 2009. *Staphylococcus aureus*: new evidence for intracellular persistence. *Trends Microbiol.* 17, 59–65. doi:10.1016/j.tim.2008.11.005
- Giri, S.N., Chen, Z., Carroll, E.J., Mueller, R., Schiedt, M.J., Panico, L., 1984. Role of prostaglandins in pathogenesis of bovine mastitis induced by *Escherichia coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 45, 586–591.
- Giri, S.N., Emau, P., Cullor, J.S., Stabenfeldt, G.H., Bruss, M.L., Bondurant, R.H., Osburn, B.I., 1990. Effects of endotoxin infusion on circulating levels of eicosanoids, progesterone, cortisol, glucose and lactic acid, and abortion in pregnant cows. *Vet. Microbiol.* 21, 211–231.
- Goldammer, T., Zerbe, H., Molenaar, A., Schuberth, H.-J., Brunner, R.M., Kata, S.R., Seyfert, H.-M., 2004. Mastitis increases mammary mRNA abundance of beta-defensin 5, toll-like-receptor 2 (TLR2), and TLR4 but not TLR9 in cattle. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 11, 174–185.
- Gonçalves, J.L., Tomazi, T., Barreiro, J.R., Beuron, D.C., Arcari, M.A., Lee, S.H.I., Martins, C.M. de M.R., Araújo Junior, J.P., dos Santos, M.V., 2016. Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. *Vet. J. Lond. Engl.* 1997 209, 87–92. doi:10.1016/j.tvjl.2015.08.009
- Grant, R.G., Finch, J.M., 1997. Phagocytosis of *Streptococcus uberis* by bovine mammary gland macrophages. *Res. Vet. Sci.* 62, 74–78.
- Green, M.J., Green, L.E., Medley, G.F., Schukken, Y.H., Bradley, A.J., 2002. Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85, 2589–2599. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74343-9
- Grimard, B., Disenhaus, C., 2005. Les anomalies de la reprise de la cyclicité après vêlage. *Point Vét. N° Spéc. Reprod. Rumin. Maitrise Cycles Pathol.* 36, 16–21.

- Gröhn, Y.T., González, R.N., Wilson, D.J., Hertl, J.A., Bennett, G., Schulte, H., Schukken, Y.H., 2005. Effect of pathogen-specific clinical mastitis on herd life in two New York State dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 71, 105–125. doi:10.1016/j.prevetmed.2005.06.002
- Gröhn, Y.T., Wilson, D.J., González, R.N., Hertl, J.A., Schulte, H., Bennett, G., Schukken, Y.H., 2004. Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 3358–3374. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73472-4
- Guélou, K., 2010. La mortalité embryonnaire chez la vache et l'influence de l'alimentation (Thèse de doctorat vétérinaire). Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons Alfort.
- Hansen, P.J., Soto, P., Natzke, R.P., 2004. Mastitis and fertility in cattle - possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality. *Am. J. Reprod. Immunol. N. Y. N* 1989 51, 294–301. doi:10.1111/j.1600-0897.2004.00160.x
- Hanzen, C., 2015a. Les mammites : approche individuelle et de troupeau.
- Hanzen, C., 2015b. Pathologies : les facteurs d'infertilité et d'infécondité en reproduction bovine, Service de Thériogénologie des animaux de production. ed. Université de Liège.
- Hanzen, C., 2009. Approche épidémiologique de la reproduction bovine. La gestion de la reproduction. Service de Thériogénologie des animaux de production, Université de Liège.
- Harmon, R.J., 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77, 2103–2112. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8
- Heinrich, A., Duffield, T.F., Lissemore, K.D., Millman, S.T., 2010. The effect of meloxicam on behavior and pain sensitivity of dairy calves following cautery dehorning with a local anesthetic. *J. Dairy Sci.* 93, 2450–2457. doi:10.3168/jds.2009-2813
- Heinrich, A., Duffield, T.F., Lissemore, K.D., Squires, E.J., Millman, S.T., 2009. The impact of meloxicam on postsurgical stress associated with cautery dehorning. *J. Dairy Sci.* 92, 540–547. doi:10.3168/jds.2008-1424
- Heringstad, B., Andersen-Ranberg, I.M., Chang, Y.M., Gianola, D., 2006. Short communication: Genetic analysis of nonreturn rate and mastitis in first-lactation Norwegian Red cows. *J. Dairy Sci.* 89, 4420–4423. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72489-4
- Hertl, J.A., Gröhn, Y.T., Leach, J.D.G., Bar, D., Bennett, G.J., González, R.N., Rauch, B.J., Welcome, F.L., Tauer, L.W., Schukken, Y.H., 2010. Effects of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on the probability of conception in New York State Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 1551–1560. doi:10.3168/jds.2009-2599
- Hertl, J.A., Schukken, Y.H., Welcome, F.L., Tauer, L.W., Gröhn, Y.T., 2014. Effects of pathogen-specific clinical mastitis on probability of conception in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 6942–6954. doi:10.3168/jds.2014-8203
- Herzog, K., Strüve, K., Kastelic, J.P., Piechotta, M., Ulbrich, S.E., Pfarrer, C., Shirasuna, K., Shimizu, T., Miyamoto, A., Bollwein, H., 2012. Escherichia coli lipopolysaccharide administration transiently suppresses luteal structure and function in diestrous cows. *Reprod. Camb. Engl.* 144, 467–476. doi:10.1530/REP-12-0138
- Hewson, C.J., Dohoo, I.R., Lemke, K.A., Barkema, H.W., 2007. Canadian veterinarians' use of analgesics in cattle, pigs, and horses in 2004 and 2005. *Can. Vet. J. Rev. Veterinaire Can.* 48, 155–164.
- Hill, A.W., Finch, J.M., Field, T.R., Leigh, J.A., 1994. Immune modification of the pathogenesis of *Streptococcus uberis* mastitis in the dairy cow. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 8, 109–117.

- Hill, J., Gilbert, R., 2008. Reduced quality of bovine embryos cultured in media conditioned by exposure to an inflamed endometrium. *Aust. Vet. J.* 86, 312–316. doi:10.1111/j.1751-0813.2008.00326.x
- Hockett, M.E., Almeida, R.A., Rohrbach, N.R., Oliver, S.P., Dowlen, H.H., Schrick, F.N., 2005. Effects of induced clinical mastitis during preovulation on endocrine and follicular function. *J. Dairy Sci.* 88, 2422–2431. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72920-9
- Hockett, M.E., Hopkins, F.M., Lewis, M.J., Saxton, A.M., Dowlen, H.H., Oliver, S.P., Schrick, F.N., 2000. Endocrine profiles of dairy cows following experimentally induced clinical mastitis during early lactation. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 241–251.
- Hudson, C.D., Bradley, A.J., Breen, J.E., Green, M.J., 2015. Dairy herd mastitis and reproduction: using simulation to aid interpretation of results from discrete time survival analysis. *Vet. J. Lond. Engl.* 1997 204, 47–53. doi:10.1016/j.tvjl.2015.01.024
- Hudson, C.D., Bradley, A.J., Breen, J.E., Green, M.J., 2012. Associations between udder health and reproductive performance in United Kingdom dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95, 3683–3697. doi:10.3168/jds.2011-4629
- Humblet, M.-F., Guyot, H., Boudry, B., Mbayahi, F., Hanzen, C., Rollin, F., Godeau, J.-M., 2006. Relationship between haptoglobin, serum amyloid A, and clinical status in a survey of dairy herds during a 6-month period. *Vet. Clin. Pathol.* 35, 188–193.
- Huszenicza, G., Jánosi, S., Kulcsár, M., Kóródi, P., Reiczigel, J., Kátai, L., Peters, A.R., De Rensis, F., 2005. Effects of clinical mastitis on ovarian function in post-partum dairy cows. *Reprod. Domest. Anim. Zuchthyg.* 40, 199–204. doi:10.1111/j.1439-0531.2005.00571.x
- Huxley, J.N., Whay, H.R., 2006. Current attitudes of cattle practitioners to pain and the use of analgesics in cattle. *Vet. Rec.* 159, 662–668.
- Inchaisri, C., Jorritsma, R., Vos, P.L. a. M., van der Weijden, G.C., Hogeveen, H., 2010. Economic consequences of reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology* 74, 835–846. doi:10.1016/j.theriogenology.2010.04.008
- Jacquinet, S., 2009. Evaluation du dépistage des mammites par la conductivité électrique du lait (Thèse de doctorat vétérinaire). Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.
- Jensen, D.L., Eberhart, R.J., 1981. Total and differential cell counts in secretions of the nonlactating bovine mammary gland. *Am. J. Vet. Res.* 42, 743–747.
- Kadarmideen, H.N., Thompson, R., Simm, G., 2000. Linear and threshold model genetic parameters for disease, fertility and milk production in dairy cattle. *Anim. Sci.* 71, 411–419. doi:10.1017/S1357729800055338
- Kamwanja, L.A., Hansen, P.J., 1993. Regulation of proliferation of bovine oviductal epithelial cells by estradiol. Interactions with progesterone, interferon-tau and interferon-alpha. *Horm. Metab. Res. Horm. Stoffwechselforschung Horm. Metab.* 25, 500–502. doi:10.1055/s-2007-1002160
- Kanyshkova, T.G., Babina, S.E., Semenov, D.V., Isaeva, N. 'ya, Vlassov, A.V., Neustroev, K.N., Kul'minskaya, A.A., Buneva, V.N., Nevinsky, G.A., 2003. Multiple enzymic activities of human milk lactoferrin. *Eur. J. Biochem.* 270, 3353–3361. doi:10.1046/j.1432-1033.2003.03715.x
- Keefe, G., 2012. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 28, 203–216. doi:10.1016/j.cvfa.2012.03.010
- King, G.J., Atkinson, B.A., Robertson, H.A., 1980. Development of the bovine placentome from days 20 to 29 of gestation. *J. Reprod. Fertil.* 59, 95–100.

- King, J.S., 1981. *Streptococcus uberis*: a review of its role as a causative organism of bovine mastitis. I. Characteristics of the organism. *Br. Vet. J.* 137, 36–52.
- Komine, K., Komine, Y., Kuroishi, T., Kobayashi, J., Obara, Y., Kumagai, K., 2005. Small Molecule Lactoferrin with an Inflammatory Effect But No Apparent Antibacterial Activity in Mastitic Mammary Gland Secretion. *J. Vet. Med. Sci.* 67, 667–677. doi:10.1292/jvms.67.667
- Ku, C.-L., Yang, K., Bustamante, J., Puel, A., von Bernuth, H., Santos, O.F., Lawrence, T., Chang, H.-H., Al-Mousa, H., Picard, C., Casanova, J.-L., 2005. Inherited disorders of human Toll-like receptor signaling: immunological implications. *Immunol. Rev.* 203, 10–20. doi:10.1111/j.0105-2896.2005.00235.x
- Kujjo, L.L., Bosu, W.T., Perez, G.I., 1995. Opioid peptides involvement in endotoxin-induced suppression of LH secretion in ovariectomized Holstein heifers. *Reprod. Toxicol. Elmsford N* 9, 169–174.
- Kutilla, T., Pyrorala, S., Saloniemi, H., Kaartinen, L., 2003. Antibacterial effect of bovine lactoferrin against udder pathogens. *Acta Vet. Scand.* 44, 35–42.
- Lavon, Y., Ezra, E., Leitner, G., Wolfenson, D., 2011a. Association of conception rate with pattern and level of somatic cell count elevation relative to time of insemination in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94, 4538–4545. doi:10.3168/jds.2011-4293
- Lavon, Y., Leitner, G., Klipper, E., Moallem, U., Meidan, R., Wolfenson, D., 2011b. Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. *Domest. Anim. Endocrinol.* 40, 98–109. doi:10.1016/j.domaniend.2010.09.004
- Lavon, Y., Leitner, G., Moallem, U., Klipper, E., Voet, H., Jacoby, S., Glick, G., Meidan, R., Wolfenson, D., 2011c. Immediate and carryover effects of Gram-negative and Gram-positive toxin-induced mastitis on follicular function in dairy cows. *Theriogenology* 76, 942–953. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.05.001
- Le Mezec, P., Chanvallon, A., Barbat-Leterrier, A., Gion, A., Barbier, S., 2014. Fertilité des principales races laitières - Bilan 1999-2012, Collection Résultats, Département Génétique - Service Aptitudes et sélection des races laitières.
- Le Page, P., Poutrel, B., 2007. Mécanismes de défense de la mamelle pendant la période de tarissement. *Journ. Natl. GTV.*
- Lees, P., 2009. Analgesic, antiinflammatory and antipyretic drugs, in: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Wiley-Blackwell, Ames, p. 1524.
- LEIGH, J.A., 1999. *Streptococcus uberis*: A Permanent Barrier to the Control of Bovine Mastitis? *Vet. J.* 157, 225–238. doi:10.1053/tvjl.1998.0298
- Leigh, J.A., Field, T.R., 1994. *Streptococcus uberis* resists the bactericidal action of bovine neutrophils despite the presence of bound immunoglobulin. *Infect. Immun.* 62, 1854–1859.
- Leitner, G., Shoshani, E., Krifucks, O., Chaffer, M., Saran, A., 2000. Milk leucocyte population patterns in bovine udder infection of different aetiology. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 47, 581–589.
- Leslie, K.E., Petersson-Wolfe, C.S., 2012. Assessment and management of pain in dairy cows with clinical mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 28, 289–305. doi:10.1016/j.cvfa.2012.04.002
- Lesort, C., 2014. Evaluation en conditions d'élevage d'une grille d'évaluation de la douleur après césarienne chez la vache de race charolaise et intérêt d'un anti-inflammatoire non stéroïdien avant la césarienne sur la qualité du transfert d'immunité passive chez le veau (Thèse de

- doctorat vétérinaire). Oniris Ecole Nationale Vétérinaire Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes-Atlantique, Nantes.
- Li, P.S., Wagner, W.C., 1983. In vivo and in vitro studies on the effect of adrenocorticotrophic hormone or cortisol on the pituitary response to gonadotropin releasing hormone. *Biol. Reprod.* 29, 25–37.
- Lohuis, J.A., Van Leeuwen, W., Verheijden, J.H., Brand, A., Van Miert, A.S., 1989a. Effect of steroidal anti-inflammatory drugs on *Escherichia coli* endotoxin-induced mastitis in the cow. *J. Dairy Sci.* 72, 241–249. doi:10.3168/jds.S0022-0302(89)79102-5
- Lohuis, J.A., Van Leeuwen, W., Verheijden, J.H., Brand, A., Van Miert, A.S., 1989b. Flunixin meglumine and flurbiprofen in cows with experimental *Escherichia coli* mastitis. *Vet. Rec.* 124, 305–308.
- Lomander, H., Svensson, C., Hallén-Sandgren, C., Gustafsson, H., Frössling, J., 2013. Associations between decreased fertility and management factors, claw health, and somatic cell count in Swedish dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96, 6315–6323. doi:10.3168/jds.2012-6475
- Lucy, M.C., 2001. Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? *J. Dairy Sci.* 84, 1277–1293. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0
- Lüttgenau, J., Möller, B., Kradolfer, D., Wellnitz, O., Bruckmaier, R.M., Miyamoto, A., Ulbrich, S.E., Bollwein, H., 2016a. Lipopolysaccharide enhances apoptosis of corpus luteum in isolated perfused bovine ovaries in vitro. *Reprod. Camb. Engl.* 151, 17–28. doi:10.1530/REP-15-0281
- Lüttgenau, J., Wellnitz, O., Kradolfer, D., Kalaitzakis, E., Ulbrich, S.E., Bruckmaier, R.M., Bollwein, H., 2016b. Intramammary lipopolysaccharide infusion alters gene expression but does not induce lysis of the bovine corpus luteum. *J. Dairy Sci.* 99, 4018–4031. doi:10.3168/jds.2015-10641
- McCann, S.M., Kimura, M., Karanth, S., Yu, W.H., Mastronardi, C.A., Rettori, V., 2000. The mechanism of action of cytokines to control the release of hypothalamic and pituitary hormones in infection. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 917, 4–18.
- McDougall, S., Abbeloos, E., Piepers, S., Rao, A.S., Astiz, S., van Werven, T., Statham, J., Pérez-Villalobos, N., 2016. Addition of meloxicam to the treatment of clinical mastitis improves subsequent reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 99, 2026–2042. doi:10.3168/jds.2015-9615
- McDougall, S., Bryan, M.A., 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. *J. Dairy Sci.* 92, 4421–4431. doi:10.3168/jds.2009-2284
- Medrano-Galarza, C., Gibbons, J., Wagner, S., de Passillé, A.M., Rushen, J., 2012. Behavioral changes in dairy cows with mastitis. *J. Dairy Sci.* 95, 6994–7002. doi:10.3168/jds.2011-5247
- Mehrzad, J., Duchateau, L., Burvenich, C., 2004. Viability of milk neutrophils and severity of bovine coliform mastitis. *J. Dairy Sci.* 87, 4150–4162. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73558-4
- Mehrzad, J., Duchateau, L., Pyörälä, S., Burvenich, C., 2002. Blood and milk neutrophil chemiluminescence and viability in primiparous and pluriparous dairy cows during late pregnancy, around parturition and early lactation. *J. Dairy Sci.* 85, 3268–3276. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74415-9
- Mialot, J.P., Constant, F., Chastant-Maillard, S., Ponter, A., Grimard, B., 2001. La croissance folliculaire ovarienne chez les bovins : nouveautés et applications.

- Moore, D.A., Cullor, J.S., Bondurant, R.H., Sischo, W.M., 1991. Preliminary field evidence for the association of clinical mastitis with altered interestrus intervals in dairy cattle. *Theriogenology* 36, 257–265.
- Morris, M.J., Kaneko, K., Uppal, S.K., S L Walker, null, Jones, D.N., Routly, J.E., Smith, R.F., Dobson, H., 2013. Effects of high somatic cell counts in milk on reproductive hormones and oestrus behaviour in dairy cows with special reference to those with concurrent lameness. *Anim. Reprod. Sci.* 141, 20–25. doi:10.1016/j.anireprosci.2013.07.004
- Mullan, N.A., Carter, E.A., Nguyen, K.A., 1985. Phagocytic and bactericidal properties of bovine macrophages from non-lactating mammary glands. *Res. Vet. Sci.* 38, 160–166.
- Nakajima, Y., Mikami, O., Yoshioka, M., Motoi, Y., Ito, T., Ishikawa, Y., Fuse, M., Nakano, K., Yasukawa, K., 1997. Elevated levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and interleukin-6 (IL-6) activities in the sera and milk of cows with naturally occurring coliform mastitis. *Res. Vet. Sci.* 62, 297–298.
- Nickerson, S.C., Pankey, J.W., 1983. Cytologic observations of the bovine teat end. *Am. J. Vet. Res.* 44, 1433–1441.
- Nishimura, T., 2003. Expression of potential lymphocyte trafficking mediator molecules in the mammary gland. *Vet. Res.* 34, 3–10. doi:10.1051/vetres:2002045
- NMC, 1997. A Look at Physiological and Regulatory SCC Standards in Milk [WWW Document]. *Look Physiol. Regul. SCC Stand. Milk*. URL (accessed 10.8.15).
- Ochroch, E.A., Mardini, I.A., Gottschalk, A., 2003. What is the role of NSAIDs in pre-emptive analgesia? *Drugs* 63, 2709–2723.
- Odensvik, K., Magnusson, U., 1996. Effect of oral administration of flunixin meglumine on the inflammatory response to endotoxin in heifers. *Am. J. Vet. Res.* 57, 201–204.
- Ohtsuka, H., Kudo, K., Mori, K., Nagai, F., Hatsugaya, A., Tajima, M., Tamura, K., Hoshi, F., Koiwa, M., Kawamura, S., 2001. Acute phase response in naturally occurring coliform mastitis. *J. Vet. Med. Sci.* 63, 675–678.
- Olson, M.E., Ralston, B., Burwash, L., Matheson-Bird, H., Allan, N.D., 2016. Efficacy of oral meloxicam suspension for prevention of pain and inflammation following band and surgical castration in calves. *BMC Vet. Res.* 12, 102. doi:10.1186/s12917-016-0735-3
- Opsomer, G., De Kruif, A., 2008. La détection des chaleurs : quels sont les problèmes rencontrés chez les vaches laitières hautes productrices? *Nouv. Prat. Vét. Élev. Santé* 2, 29–34.
- Opsomer, G., Gröhn, Y.T., Hertl, J., Coryn, M., Deluyker, H., de Kruif, A., 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology* 53, 841–857. doi:10.1016/S0093-691X(00)00234-X
- Oviedo-Boyso, J., Valdez-Alarcón, J.J., Cajero-Juárez, M., Ochoa-Zarzosa, A., López-Meza, J.E., Bravo-Patiño, A., Baizabal-Aguirre, V.M., 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infect.* 54, 399–409. doi:10.1016/j.jinf.2006.06.010
- Paape, M., Mehrzad, J., Zhao, X., Dettloux, J., Burvenich, C., 2002. Defense of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 7, 109–121.
- Paape, M.J., Bannerman, D.D., Zhao, X., Lee, J.-W., 2003. The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. *Vet. Res.* 34, 597–627. doi:10.1051/vetres:2003024

- Padmanabhan, V., Keech, C., Convey, E.M., 1983. Cortisol inhibits and adrenocorticotropin has no effect on luteinizing hormone-releasing hormone-induced release of luteinizing hormone from bovine pituitary cells in vitro. *Endocrinology* 112, 1782–1787. doi:10.1210/endo-112-5-1782
- Perez Martinez, S., Franchi, A.M., Viggiano, J.M., Herrero, M.B., Gimeno, M., 1998. Effect of prostaglandin F2 alpha (PGF2 alpha) on oviductal nitric oxide synthase (NOS) activity: possible role of endogenous NO on PGF2 alpha-induced contractions in rat oviduct. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 56, 155–166.
- Persson, K., Larsson, I., Hallén Sandgren, C., 1993. Effects of certain inflammatory mediators on bovine neutrophil migration in vivo and in vitro. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 37, 99–112.
- Persson Waller, K., Colditz, I.G., Lun, S., Ostensson, K., 2003. Cytokines in mammary lymph and milk during endotoxin-induced bovine mastitis. *Res. Vet. Sci.* 74, 31–36.
- Peter, A.T., Bosu, W.T., DeDecker, R.J., 1989. Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of *Escherichia coli* endotoxin. *Am. J. Vet. Res.* 50, 368–373.
- Peters, A.R., Lamming, G.E., 1986. Regulation of ovarian function in the post partum cow: an endocrine model. *Vet. Rec.* 118, 236–239.
- Peters, M.D.P., Silveira, I.D.B., Fischer, V., 2015. Impact of subclinical and clinical mastitis on sensitivity to pain of dairy cows. *Anim. Int. J. Anim. Biosci.* 9, 2024–2028. doi:10.1017/S1751731115001391
- Petroff, M.G., Petroff, B.K., Pate, J.L., 2001. Mechanisms of cytokine-induced death of cultured bovine luteal cells. *Reprod. Camb. Engl.* 121, 753–760.
- Picard-Hagen, N., Berthelot, X., Humblot, P., 2005. Synchronisation des chaleurs chez la vache : principes et facteurs de variation des résultats. *Point Vét.* 36 (N° spécial Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie), 28–31.
- Pinedo, P.J., Melendez, P., Villagomez-Cortes, J.A., Risco, C.A., 2009. Effect of high somatic cell counts on reproductive performance of Chilean dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92, 1575–1580. doi:10.3168/jds.2008-1783
- Pinto, A., Bouca, P., Chevallier, A., Freret, S., Grimard, B., Humblot, P., 2000. Sources de variation de la fertilité et des fréquences de mortalité embryonnaire chez la vache laitière. *Renc Rech Rumin.* 7, 214–216.
- Poll, C., 2007. La mortalité embryonnaire chez les bovins (Thèse de doctorat vétérinaire). Ecole nationale vétérinaire de Lyon.
- Poutrel, B., 2008. Les endotoxines (LPS) des bactéries Gram négatif : rôle physiopathologique dans les mammites à coliformes. *Bull. GTV* 43, 25–31.
- Pyörälä, S., Taponen, S., 2009. Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Vet. Microbiol.* 134, 3–8. doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.015
- Raboisson, D., Mounié, M., Maigné, E., 2014. Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: a meta-analysis and review. *J. Dairy Sci.* 97, 7547–7563. doi:10.3168/jds.2014-8237
- Rahman, M.M., 2009. Morphometric and molecular studies of the correlation between chronic mastitis and infertility in dairy cattle (Thèse de doctorat universitaire). Università' Degli Studi di Milano, Milan.

- Rainard, P., 2003. The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. *Vet. Res.* 34, 647–670. doi:10.1051/vetres:2003025
- Rainard, P., Poutrel, B., 2000. Generation of complement fragment C5a in milk is variable among cows. *J. Dairy Sci.* 83, 945–951. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)74958-7
- Rainard, P., Poutrel, B., 1995. Deposition of complement components on *Streptococcus agalactiae* in bovine milk in the absence of inflammation. *Infect. Immun.* 63, 3422–3427.
- Rainard, P., Riollet, C., 2006. Innate immunity of the bovine mammary gland. *Vet. Res.* 37, 369–400. doi:10.1051/vetres:2006007
- Rainard, P., Sarradin, P., Paape, M.J., Poutrel, B., 1998. Quantification of C5a/C5a(desArg) in bovine plasma, serum and milk. *Vet. Res.* 29, 73–88.
- Rambeaud, M., Almeida, R.A., Pighetti, G.M., Oliver, S.P., 2003. Dynamics of leukocytes and cytokines during experimentally induced *Streptococcus uberis* mastitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 96, 193–205.
- Repenning, P.E., Ahola, J.K., Callan, R.J., French, J.T., Giles, R.L., Bigler, B.J., Coetzee, J.F., Wulf, L.W., Peel, R.K., Whittier, J.C., Fox, J.T., Engle, T.E., 2013. Impact of oral meloxicam administration before and after band castration on feedlot performance and behavioral response in weanling beef bulls. *J. Anim. Sci.* 91, 4965–4974. doi:10.2527/jas.2012-6070
- Risco, C.A., Donovan, G.A., Hernandez, J., 1999. Clinical mastitis associated with abortion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 1684–1689. doi:10.3168/jds.S0022-0302(99)75397-X
- Roberson, J.R., 2012. Treatment of clinical mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 28, 271–288. doi:10.1016/j.cvfa.2012.03.011
- Roth, Z., Asaf, S., Furman, O., Lavon, Y., Kalo, D., Wolfenson, D., Leitner, G., 2015. Subclinical mastitis disrupts oocyte cytoplasmic maturation in association with reduced developmental competence and impaired gene expression in preimplantation bovine embryos. *Reprod. Fertil. Dev.* doi:10.1071/RD14431
- Roth, Z., Dvir, A., Kalo, D., Lavon, Y., Krifucks, O., Wolfenson, D., Leitner, G., 2013. Naturally occurring mastitis disrupts developmental competence of bovine oocytes. *J. Dairy Sci.* 96, 6499–6505. doi:10.3168/jds.2013-6903
- Roth, Z., Wolfenson, D., 2016. Comparing the effects of heat stress and mastitis on ovarian function in lactating cows: basic and applied aspects. *Domest. Anim. Endocrinol.* 56 Suppl, S218-227. doi:10.1016/j.domaniend.2016.02.013
- Roussel, P., Seegers, H., Sérieys, F., 2011. CASDAR Santé - Guide d'intervention pour la maîtrise des mammmites.
- Royal, M.D., Darwash, A.O., Flint, A.P.F., Webb, R., Woolliams, J.A., Lamming, G.E., 2000. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim. Sci.* 70, 487–501. doi:10.1017/S1357729800051845
- Rutten, C.J., Steeneveld, W., Inchaisri, C., Hogeveen, H., 2014. An ex ante analysis on the use of activity meters for automated estrus detection: to invest or not to invest? *J. Dairy Sci.* 97, 6869–6887. doi:10.3168/jds.2014-7948
- Savio, J.D., Boland, M.P., Roche, J.F., 1990. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 88, 581–591.
- Schmitz, S., Pfaffl, M.W., Meyer, H.H.D., Bruckmaier, R.M., 2004. Short-term changes of mRNA expression of various inflammatory factors and milk proteins in mammary tissue during LPS-induced mastitis. *Domest. Anim. Endocrinol.* 26, 111–126.

- Schrack, F.N., Hockett, M.E., Saxton, A.M., Lewis, M.J., Dowlen, H.H., Oliver, S.P., 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J. Dairy Sci.* 84, 1407–1412. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)70172-5
- Schukken, Y., Chuff, M., Moroni, P., Gurjar, A., Santisteban, C., Welcome, F., Zadoks, R., 2012. The “other” gram-negative bacteria in mastitis: *Klebsiella*, *serratia*, and more. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 28, 239–256. doi:10.1016/j.cvfa.2012.04.001
- Schukken, Y.H., Bennett, G.J., Zurakowski, M.J., Sharkey, H.L., Rauch, B.J., Thomas, M.J., Ceglowski, B., Saltman, R.L., Belomestnykh, N., Zadoks, R.N., 2011. Randomized clinical trial to evaluate the efficacy of a 5-day ceftiofur hydrochloride intramammary treatment on nonsevere gram-negative clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 94, 6203–6215. doi:10.3168/jds.2011-4290
- Schukken, Y.H., Günther, J., Fitzpatrick, J., Fontaine, M.C., Goetze, L., Holst, O., Leigh, J., Petzl, W., Schuberth, H.-J., Sipka, A., Smith, D.G.E., Quesnell, R., Watts, J., Yancey, R., Zerbe, H., Gurjar, A., Zadoks, R.N., Seyfert, H.-M., members of the Pfizer mastitis research consortium, 2011. Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 144, 270–289. doi:10.1016/j.vetimm.2011.08.022
- Schultze, W.D., Bright, S.C., 1983. Changes in penetrability of bovine papillary duct to endotoxin after milking. *Am. J. Vet. Res.* 44, 2373–2375.
- Seals, R.C., Lemaster, J.W., Hopkins, F.M., Schrick, F.N., 1998. Effects of elevated concentrations of prostaglandin F₂ alpha on pregnancy rates in progestogen supplemented cattle. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 56, 377–389.
- Seegers, H., Malher, X., 1996. Les actions de maîtrise des performances de reproduction et leur efficacité économique en élevage bovin laitier. *Point Vét.* 28, 117–125.
- Sérieys, F., 1985. Interprétation des concentrations cellulaires du lait individuel de vache pour le diagnostic de l'état d'infection mammaire. *Ann. Vet. Res.* 3, 263–269.
- Shpigel, N.Y., Chen, R., Winkler, M., Saran, A., Ziv, G., Longo, F., 1994. Anti-inflammatory ketoprofen in the treatment of field cases of bovine mastitis. *Res. Vet. Sci.* 56, 62–68.
- Shuster, D.E., Lee, E.K., Kehrl, M.E., 1996. Bacterial growth, inflammatory cytokine production, and neutrophil recruitment during coliform mastitis in cows within ten days after calving, compared with cows at midlactation. *Am. J. Vet. Res.* 57, 1569–1575.
- Siivonen, J., Taponen, S., Hovinen, M., Pastell, M., Lensink, B.J., Pyörälä, S., Hänninen, L., 2011. Impact of acute clinical mastitis on cow behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 132, 101–106. doi:10.1016/j.applanim.2011.04.005
- Silvia, W.J., 1998. Changes in reproductive performance of holstein dairy cows in kentucky from 1972 to 1996. *J. Dairy Sci.* 81 (suppl.), 244 (Abstr.).
- Simojoki, H., Orro, T., Taponen, S., Pyörälä, S., 2009. Host response in bovine mastitis experimentally induced with *Staphylococcus chromogenes*. *Vet. Microbiol.* 134, 95–99. doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.003
- Simojoki, H., Salomäki, T., Taponen, S., Iivanainen, A., Pyörälä, S., 2011. Innate immune response in experimentally induced bovine intramammary infection with *Staphylococcus simulans* and *S. epidermidis*. *Vet. Res.* 42, 49. doi:10.1186/1297-9716-42-49
- Skarzynski, D.J., Miyamoto, Y., Okuda, K., 2000. Production of prostaglandin f₂(alpha) by cultured bovine endometrial cells in response to tumor necrosis factor alpha: cell type specificity and intracellular mechanisms. *Biol. Reprod.* 62, 1116–1120.

- Smith, G.W., Davis, J.L., Tell, L.A., Webb, A.I., Riviere, J.E., 2008. Extralabel use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 232, 697–701. doi:10.2460/javma.232.5.697
- Smits, E., Cifrian, E., Guidry, A.J., Rainard, P., Burvenich, C., Paape, M.J., 1996. Cell culture system for studying bovine neutrophil diapedesis. *J. Dairy Sci.* 79, 1353–1360. doi:10.3168/jds.S0022-0302(96)76492-5
- Snijders, S.E., Dillon, P., O’Callaghan, D., Boland, M.P., 2000. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. *Theriogenology* 53, 981–989. doi:10.1016/S0093-691X(00)00244-2
- Sohn, E.J., Paape, M.J., Bannerman, D.D., Connor, E.E., Fetterer, R.H., Peters, R.R., 2007. Shedding of sCD14 by bovine neutrophils following activation with bacterial lipopolysaccharide results in down-regulation of IL-8. *Vet. Res.* 38, 95–108. doi:10.1051/vetres:2006052
- Sordillo, L.M., Kendall, J.T., Corl, C.M., Cross, T.H., 2005. Molecular characterization of a saposin-like protein family member isolated from bovine lymphocytes. *J. Dairy Sci.* 88, 1378–1390. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72805-8
- Sordillo, L.M., Nickerson, S.C., Akers, R.M., Oliver, S.P., 1987. Secretion composition during bovine mammary involution and the relationship with mastitis. *Int. J. Biochem.* 19, 1165–1172.
- Sordillo, L.M., Peel, J.E., 1992. Effect of interferon-gamma on the production of tumor necrosis factor during acute *Escherichia coli* mastitis. *J. Dairy Sci.* 75, 2119–2125. doi:10.3168/jds.S0022-0302(92)77971-5
- Sordillo, L.M., Raphael, W., 2013. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 29, 267–278. doi:10.1016/j.cvfa.2013.03.002
- Sordillo, L.M., Streicher, K.L., 2002. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 7, 135–146.
- Soto, P., Natzke, R.P., Hansen, P.J., 2003a. Actions of tumor necrosis factor-alpha on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *Am. J. Reprod. Immunol. N. Y. N* 1989 50, 380–388.
- Soto, P., Natzke, R.P., Hansen, P.J., 2003b. Identification of possible mediators of embryonic mortality caused by mastitis: actions of lipopolysaccharide, prostaglandin F2alpha, and the nitric oxide generator, sodium nitroprusside dihydrate, on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *Am. J. Reprod. Immunol. N. Y. N* 1989 50, 263–272.
- Spicer, L.J., Alpizar, E., 1994. Effects of cytokines on FSH-induced estradiol production by bovine granulosa cells in vitro: dependence on size of follicle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 11, 25–34.
- Steiger, M., Senn, M., Altreuther, G., Werling, D., Sutter, F., Kreuzer, M., Langhans, W., 1999. Effect of a prolonged low-dose lipopolysaccharide infusion on feed intake and metabolism in heifers. *J. Anim. Sci.* 77, 2523–2532.
- Stewart, A.B., Inskip, E.K., Townsend, E.C., Dailey, R.A., 2003. Effects of Gram-positive bacterial pathogens in ewes: peptidoglycan as a potential mediator of interruption of early pregnancy. *Reprod. Camb. Engl.* 125, 295–299.
- Stoebel, D.P., Moberg, G.P., 1982. Effect of adrenocorticotropin and cortisol on luteinizing hormone surge and estrous behavior of cows. *J. Dairy Sci.* 65, 1016–1024. doi:10.3168/jds.S0022-0302(82)82303-5

- Strandberg, Y., Gray, C., Vuocolo, T., Donaldson, L., Broadway, M., Tellam, R., 2005. Lipopolysaccharide and lipoteichoic acid induce different innate immune responses in bovine mammary epithelial cells. *Cytokine* 31, 72–86. doi:10.1016/j.cyto.2005.02.010
- Suzuki, C., Yoshioka, K., Iwamura, S., Hirose, H., 2001. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers. *Domest. Anim. Endocrinol.* 20, 267–278.
- Taponen, S., Liski, E., Heikkilä, A.-M., Pyörälä, S., 2017. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, or *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.* 100, 493–503. doi:10.3168/jds.2016-11465
- Tatarczuch, L., Philip, C., Bischof, R., Lee, C.S., 2000. Leucocyte phenotypes in involuting and fully involuted mammary glandular tissues and secretions of sheep. *J. Anat.* 196 (Pt 3), 313–326.
- Thakker, M., Park, J.S., Carey, V., Lee, J.C., 1998. *Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model. *Infect. Immun.* 66, 5183–5189.
- Thibault, C., Levasseur, M.-C., 2001. , in: *La Reproduction Chez Les Mammifères et l’homme*. INRA, Paris, p. 928.
- Thomas, L.H., Haider, W., Hill, A.W., Cook, R.S., 1994. Pathologic findings of experimentally induced *Streptococcus uberis* infection in the mammary gland of cows. *Am. J. Vet. Res.* 55, 1723–1728.
- Thomas, L.H., Leigh, J.A., Bland, A.P., Cook, R.S., 1992. Adherence and colonization by bacterial pathogens in explant cultures of bovine mammary tissue. *Vet. Res. Commun.* 16, 87–96.
- Todhunter, D.A., Smith, K.L., Hogan, J.S., Schoenberger, P.S., 1991. Gram-negative bacterial infections of the mammary gland in cows. *Am. J. Vet. Res.* 52, 184–188.
- Vallet, A., Berny, F., Pimpaud, J.Y., Lavest, E., Lagrive, L., 1997. Facteurs d’élevages associés à l’infécondité dans des troupeaux laitiers dans les Ardennes. *Bull. GTV* 1, 22–36.
- Van Amersfoort, E.S., Van Berkel, T.J.C., Kuiper, J., 2003. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 379–414.
- Van Hoeck, V., Bols, P.E.J., Binelli, M., Leroy, J.L.M.R., 2014. Reduced oocyte and embryo quality in response to elevated non-esterified fatty acid concentrations: a possible pathway to subfertility? *Anim. Reprod. Sci.* 149, 19–29. doi:10.1016/j.anireprosci.2014.07.015
- van Soest, F.J., McDougall, S., Hogeveen, H., 2016. Economic Benefit of an Improved Conception Rate in Dairy Cows through Additional Treatment of Mastitis with Meloxicam.
- Vanderhaeghen, W., Piepers, S., Leroy, F., Van Coillie, E., Haesebrouck, F., De Vlieghe, S., 2014. Invited review: effect, persistence, and virulence of coagulase-negative *Staphylococcus* species associated with ruminant udder health. *J. Dairy Sci.* 97, 5275–5293. doi:10.3168/jds.2013-7775
- Vangroenweghe, F., Duchateau, L., Boutet, P., Lekeux, P., Rainard, P., Paape, M.J., Burvenich, C., 2005. Effect of carprofen treatment following experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in primiparous cows. *J. Dairy Sci.* 88, 2361–2376. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72914-3
- Wagner, S.A., Apley, M.D., 2004. Effects of two anti-inflammatory drugs on physiologic variables and milk production in cows with endotoxin-induced mastitis. *Am. J. Vet. Res.* 65, 64–68.

- Wallemacq, H., Girard, B., Lekeux, P., Bureau, F., 2010. La vaccination contre les mammites à *Staphylococcus aureus* chez la vache laitière. *Ann Méd Vét* 154, 16–29.
- Wellnitz, O., Arnold, E.T., Bruckmaier, R.M., 2011. Lipopolysaccharide and lipoteichoic acid induce different immune responses in the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 94, 5405–5412. doi:10.3168/jds.2010-3931
- Wellnitz, O., Bruckmaier, R.M., 2012. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *Vet. J. Lond. Engl.* 197 192, 148–152. doi:10.1016/j.tvjl.2011.09.013
- Wilson, D.J., Grohn, Y.T., Bennett, G.J., González, R.N., Schukken, Y.H., Spatz, J., 2008. Milk production change following clinical mastitis and reproductive performance compared among J5 vaccinated and control dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 91, 3869–3879. doi:10.3168/jds.2008-1405
- Wiltbank, M., Lopez, H., Sartori, R., Sangsritavong, S., Gümen, A., 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65, 17–29. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.10.003
- Zimov, J.L., Botheras, N.A., Weiss, W.P., Hogan, J.S., 2011. Associations among behavioral and acute physiologic responses to lipopolysaccharide-induced clinical mastitis in lactating dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 72, 620–627. doi:10.2460/ajvr.72.5.620
- Ziv, G., Shem-Tov, M., Ascher, F., 1998. Combined effect of ampicillin, colistin and dexamethasone administered intramuscularly to dairy cows on the clinico-pathological course of *E. coli*-endotoxin mastitis. *Vet. Res.* 29, 89–98.

EFFET D'UN TRAITEMENT ANTI-INFLAMMATOIRE SUR LA FERTILITÉ LORS DE MAMMITE CHEZ LA VACHE

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

NOM et Prénom : NEHLIG Nicolas

Résumé :

Les mammites bovines et les troubles de la fertilité constituent les plus importantes affections rencontrées dans les cheptels bovins laitiers. Un lien entre ces deux entités a été suspecté au cours des dernières décennies, et plusieurs études ont exploré l'impact potentiel des mammites sur la fertilité bovine. Ainsi, l'inflammation générée par cette infection mammaire impacte le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique, de la fonction ovarienne et de la maturation ovocytaire, favorise la production de prostaglandines au niveau endométrial et exerce un effet direct sur l'embryon.

A l'heure actuelle, l'administration systématique d'anti-inflammatoires lors de mammites bovines n'est pas la norme, ceux-ci étant généralement réservés aux cas de mammites cliniques les plus graves (en dépit des études mettant en avant son intérêt clinique). Or, cette infection mammaire, outre son impact sur la fertilité, conduit également au développement d'une douleur et donc sur le bien-être des bovins atteints.

Ce travail propose une synthèse bibliographique des données actuelles de la littérature scientifique sur le lien entre mammites et fertilité. Par la suite, l'intérêt d'un traitement anti-inflammatoire lors de la mammite sur la fertilité est présenté. Pour répondre à cette question, seule une étude a été retrouvée : celle-ci met en évidence un intérêt de l'adjonction d'un traitement anti-inflammatoire non stéroïdien lors de mammites bovines de grade faible sur le nombre d'IA permettant d'obtenir une gestation ; sur le taux de réussite en 1^{ère} IA ; sur la proportion de vaches gravides 120 jours après IA. Ce traitement anti-inflammatoire non stéroïdien systématique conduit à un gain économique pour l'éleveur, en améliorant les performances de reproduction de son troupeau. Des études complémentaires, explorant l'effet d'autres molécules anti-inflammatoires sur la fertilité, permettraient de parfaire les connaissances sur les effets de la prise en charge médicale de l'inflammation mammaire sur la fertilité.

Mots clés :

MAMMITE – REPRODUCTION – ANTI-INFLAMMATOIRE – THERAPEUTIQUE MEDICAMENTEUSE – FERTILITE – BOVIN – VACHE

Jury :

Président : **Pr.**

Directeur : **Dr. BELBIS Guillaume**

Assesseur : **Dr. MAUFFRE Vincent**

EFFECT OF THE USE OF NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS FOR MASTITIS TREATMENT ON COW FERTILITY

A BIBLIOGRAPHIC STUDY

NAME and surname: NEHLIG Nicolas

Summary:

Mastitis and fertility disorders are among main diseases encountered in dairy cattle herds. A link between these conditions have been suspected during last decades, and many studies have explored the potential impact of mastitis on cattle fertility. Thus, inflammation created during mammary gland infection impact hypothalamic-pituitary-gonadal axis and ovaries functions, oocyte maturation, prostaglandins production and have a direct effect on the embryo.

Nowadays, non-steroidal anti-inflammatory drugs are not commonly used in mastitis treatment, being mainly used for clinical mastitis with a systemic impact. However mastitis have not only an impact on fertility but also create pains and have an impact on cattle welfare.

This work present a synthesis of actual scientific knowledge about the link between mastitis and fertility. Then the potential advantage of using NSAID in mastitis treatment and its effect on fertility is presented. Only one study has been found to answer this question: this study underlines the positive impact of such a treatment on number of services per conception, first service conception rate and proportion of cows being pregnant 120 days after calving. Such a treatment strategy is associated with a positive economic impact for the farmer. Others studies should be made, for instance with other NSAID molecules, to increase knowledge of effect of treating inflammation created by mastitis on fertility.

Keywords:

MASTITIS – REPRODUCTION – ANTI-INFLAMMATORY – DRUG THERAPEUTICS – FERTILITY – BOVINE – COW

Jury:

Président : **Pr. A la Faculté de Médecine de Créteil**

Directeur : **Dr. BELBIS Guillaume**

Assesseur : **Dr. MAUFFRE Vincent**