



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 20128

To cite this version :

Valette, Flora and Robin, Claire. *Antibiothérapie intra-mammaire au tarissement : évaluation de l'efficacité du traitement sélectif (ovins laitiers)*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2016, 240 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

ANTIBIOTHERAPIE INTRA-MAMMAIRE AU TARISSEMENT : EVALUATION DE L'EFFICACITE DU TRAITEMENT SELECTIF (OVINS LAITIERS)

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

VALETTE Flora

Née, le 28 novembre 1989 à Maisons-Laffitte (78)

Et

ROBIN Claire

Née, le 23 juin 1989 à Berchem-Sainte-Agathe (Belgique)

Directeur de thèse : M. Dominique BERGONIER

JURY

PRESIDENT :

M. Éric OSWALD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Dominique BERGONIER

M. Gilles FOUCRAS

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- M. **TANIS Jean-Benoît**, *Anatomie – Imagerie Médicale*

A Monsieur le Professeur Eric OSWALD,

Professeur à la faculté de médecine de Toulouse,

Biologie Moléculaire

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

Hommages respectueux.

A Monsieur le Docteur Dominique BERGONIER,

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Qui nous a guidés tout au long de ce travail avec gentillesse et disponibilité,

En témoignage de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Gilles FOUCRAS,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie du bétail

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de faire partie de notre jury,

Très sincères remerciements.

Remerciements

A l'**exploitation ovine laitière de La Cazotte** (Saint Affrique, Aveyron), tout particulièrement à Alain HARDY et à son équipe,
Pour leur accueil chaleureux et leur aide si précieuse.

A la **Confédération de Roquefort** (Claude VACARESSE, Service Elevage),
Pour la mise à disposition des données de Contrôle laitier.

Table des matières

INTRODUCTION	24
MATERIEL ET METHODES	27
I. Présentation de l'essai	27
II. Elevage et animaux	28
1. Elevage de la Cazotte	28
a. Reproduction	28
b. Production laitière	29
c. Bergerie	30
d. Alimentation	31
e. Essais nutritionnels	32
f. Machine à traire	32
g. Gestion des mammites	33
2. Critères de sélection des animaux	34
a. Critères de non inclusion	34
b. Critères d'exclusion	34
III. Méthodes cliniques et analytiques	34
1. Données cliniques	34
a. Calendrier des interventions	34
b. Examen clinique extra-mammaire	35
c. Examen clinique mammaire	37
○ Inspection de la mamelle avant la traite	37
○ Palpation de la mamelle après la traite	39
○ « Autres »	41
2. Données cellulaires et laitières	42
a. Données du contrôle laitier	42
b. Données des essais nutritionnels	43
c. Données cellulaires supplémentaires	45
○ Campagne laitière N	45

o	Campagne laitière N+1.....	45
d.	Prélèvements de lait pour les comptages cellulaires.....	48
e.	Technique analytique pour les comptages cellulaires.....	48
3.	Données bactériologiques	49
a.	Calendrier des interventions	49
o	Campagne laitière N.....	49
o	Campagne laitière N+1.....	49
b.	Prélèvements pour la bactériologie.....	50
c.	Stratégie diagnostique.....	50
d.	Recherche de <i>Staphylococcus spp.</i> par PCR en temps réel.....	52
o	Extraction	52
o	Amplification	53
o	Contrôle interne.....	54
o	Utilisation d'une gamme étalon	54
e.	Validation de la PCR <i>Staphylococcus spp.</i>	54
IV.	Antibiothérapie intra-mammaire au tarissement	55
1.	Identification des hémi-mamelles présumées « infectées » (campagne N).....	55
2.	Constitution des lots par stratification et randomisation	56
3.	Stratégie de traitement de chaque lots et sélection des hémi-mamelles à traiter	58
a.	Lot A.....	58
b.	Lot B.....	58
c.	Lot C.....	59
4.	Date, nature et modalité du traitement intra-mammaire.....	59
V.	Antiseptie des trayons en périodes de <i>peripartum</i>	60
1.	Sélection des hémi-mamelles à traiter.....	60
2.	Nature et modalités de l'antiseptie	60
a.	Trempage des trayons avec une solution iodée avant la mise bas	60
o	Composition	60
o	Modalités d'application.....	61
b.	Pulvérisation des trayons avec une association chlorhexidine-ammoniums quaternaires après la mise bas	62
o	Composition	62
o	Modalités d'application.....	62
VI.	Caractérisation du statut infectieux des animaux	63
1.	Critère 1	63

a.	A la fin de la campagne N	63
b.	Au début de la campagne N+1	65
2.	Critère 2	66
a.	A la fin de la campagne N	66
b.	Au début de la campagne N+1	67
3.	Critère 3	68
4.	Critère 4	69
a.	A la fin de la campagne N	69
b.	Au début de la campagne N+1	73
5.	Critère 5	74
6.	Critère 6	74
a.	A la fin de la campagne N	76
b.	Au début de la campagne N+1	76
7.	Synthèse des critères	77
8.	Correspondance entre les statuts et la sélection des mamelles et des hémi-mamelles à traiter	78
9.	Evolution des statuts entre N et N+1	79
VII.	Analyses statistiques	80
	RESULTATS	81
I.	Validation de l'allotement et caractérisation des lots	81
1.	Caractérisation zootechnique	81
a.	Effectifs	81
b.	Rang de lactation	81
c.	Stade de lactation.....	82
d.	Production laitière	83
e.	Index cellules, index lait et index production	84
2.	Caractérisation clinique	86
a.	Statut clinique mammaire global des trois lots (critère 1)	86
b.	Conformation mammaire.....	86
c.	Paramètres cliniques spécifiques	87
o	Déséquilibres de la mamelle.....	87
o	Nœuds lymphatiques rétro-mammaires.....	88
o	Autres symptômes mammaires	88
d.	Note d'état corporel.....	89
3.	Caractérisation cellulaire (à l'échelle de la mamelle)	89
a.	Statut cellulaire global des trois lots (critères 2 et 3).....	89

b.	Paramètres cellulaires spécifiques	90
o	Nombre de mammites subcliniques	90
o	Durée des mammites	91
o	Début des mammites	92
o	Intensité des mammites	92
4.	Caractérisation cellulaire (à l'échelle de l'hémi-mamelle)	94
a.	Statut cellulaire global (critère 4)	94
b.	Statut global combinant les comptages cellulaires et les examens cliniques (critère 5)	94
5.	Caractérisation bactériologique.....	95
II.	Efficacité curative et préventive de l'antibiothérapie et de l'antisepsie	96
1.	Tendance générale	96
2.	Efficacité clinique (critère 1)	97
a.	Nombre de mammites cliniques aiguës <i>post partum</i>	97
b.	Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 1)	98
o	Comparaison des lots	98
o	Efficacité du traitement antibiotique	99
c.	Efficacité préventive (critère 1)	101
o	Comparaison des lots	101
o	Efficacité du traitement antibiotique	102
o	Efficacité de l'antisepsie	103
3.	Efficacité laitière et cellulaire à l'échelle de la brebis (critères 2 et 3)	105
a.	Evolution de la production laitière	105
b.	Evolution des comptages cellulaires par mamelle	108
c.	Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 2)	111
o	Comparaison des lots	111
o	Efficacité du traitement antibiotique	113
d.	Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 3)	113
o	Comparaison des lots	113
o	Efficacité du traitement antibiotique	114
e.	Efficacité préventive de l'antibiothérapie (critère 2)	114
o	Comparaison des lots	114
o	Efficacité du traitement antibiotique	116
f.	Efficacité préventive de l'antibiothérapie (critère 3)	117
o	Comparaison des lots	117
o	Efficacité du traitement antibiotique	117
4.	Efficacité cellulaire à l'échelle de l'hémi-mamelle (critère 4)	118

a.	Evolution des comptages cellulaires par hémi-mamelle.....	118
b.	Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 4).....	120
o	Comparaison des lots	120
o	Efficacité du traitement antibiotique	121
c.	Efficacité préventive (critère 4).....	123
o	Comparaison des lots	123
o	Efficacité du traitement antibiotique	124
o	Efficacité de l'antisepsie	125
5.	Efficacité clinico-cellulaire par hémi-mamelle (critère 5).....	126
a.	Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 5).....	126
o	Comparaison des lots	126
o	Efficacité du traitement antibiotique	127
b.	Efficacité préventive (critère 5).....	128
o	Comparaison des lots	128
o	Efficacité du traitement antibiotique	128
o	Efficacité de l'antisepsie	129
6.	Validation des résultats bactériologiques.....	130
a.	Validation du contrôle interne	130
o	Valeurs de CT pour le contrôle interne	130
o	Absence d'amplification du contrôle interne	132
b.	Gamme de dilution	134
c.	Répétabilité des résultats	135
d.	Corrélation des résultats bactériologiques et cellulaires	137
e.	Détermination des seuils pour le critère 6	138
o	Seuil inférieur.....	138
o	Seuil supérieur.....	138
7.	Efficacité bactériologique (critère 6)	139
a.	Prévalence de <i>Staphylococcus spp.</i> par date de prélèvements.....	139
o	Distribution des résultats par date de prélèvements	139
o	Evolution des résultats par date de prélèvements.....	141
b.	Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 6).....	142
o	Comparaison des lots	142
o	Efficacité du traitement antibiotique	142
c.	Efficacité préventive (critère 6).....	143
o	Comparaison des lots	143
o	Efficacité du traitement antibiotique	144
o	Efficacité de l'antisepsie	144

8.	Synthèse des résultats	145
a.	Efficacité curative.....	145
b.	Efficacité préventive (antibiothérapie)	147
III.	Facteurs associés à l'efficacité de l'antibiothérapie intra-mammaire	150
1.	Facteurs associés à la traduction clinique des infections (critère 1).....	152
a.	Facteurs associés à la disparition des signes cliniques	152
o	Identification des facteurs significativement associés.....	152
o	Risque relatif pour chaque facteur.....	153
b.	Facteurs associés à l'apparition de nouveaux signes cliniques.....	153
o	Identification des facteurs significativement associés.....	153
o	Risque relatif pour chaque facteur.....	156
2.	Facteurs associés à l'inflammation mammaire (critère 4).....	158
a.	Facteurs associés à l'élimination de l'inflammation.....	158
o	Identification des facteurs significativement associés.....	158
o	Risque relatif pour chaque facteur.....	158
b.	Facteurs associés à l'apparition d'une nouvelle inflammation	159
o	Identification des facteurs significativement associés.....	159
o	Risques relatifs pour chaque facteur	161
3.	Facteurs associés à l'excrétion galactophore (critère 6).....	163
a.	Facteurs associés à l'arrêt de l'excrétion	163
o	Identification des facteurs significativement associés.....	163
o	Risques relatifs pour chaque facteur	165
b.	Facteurs associés à une nouvelle excrétion.....	166
o	Identification des facteurs significativement associés.....	166
o	Risques relatifs pour chaque facteur	169
4.	Influence de l'hémi-mamelle contro-latérale	170
	DISCUSSION.....	172
I.	Discussion des matériels et des méthodes	172
1.	Type d'essai	173
2.	Sélection de l'élevage et des animaux	176
a.	Elevage	176
b.	Lots et animaux	177
3.	Recueil des données	178
a.	Données cliniques.....	178

b.	Données cellulaires.....	180
c.	Données bactériologiques.....	182
4.	Construction de critères de caractérisation des statuts infectieux.....	190
a.	Critère clinique (critère 1).....	190
b.	Critères cellulaires.....	190
c.	Critère bactériologique (critère 6).....	193
5.	Antibiothérapie intra-mammaire au tarissement.....	194
a.	Choix des brebis à traiter.....	194
b.	Choix des molécules antibiotiques et de la spécialité.....	195
6.	Antisepsie des trayons.....	197
a.	Stratégie.....	197
b.	Composition.....	197
c.	Modalités d'application.....	198
d.	Calendrier.....	198
II.	Discussion des résultats.....	200
1.	Efficacité de l'antibiothérapie intra-mammaire au tarissement.....	200
a.	Efficacité curative.....	200
b.	Efficacité préventive.....	202
2.	Comparaison du traitement exhaustif et sélectif.....	207
3.	Efficacité préventive de l'antisepsie des trayons.....	210
4.	Facteurs associés à l'efficacité de l'antibiothérapie intra-mammaire.....	212
5.	Conséquences opérationnelles.....	215
	CONCLUSION.....	218
	BIBLIOGRAPHIE.....	227

Table des illustrations

Figures

Figure 1: Chronologie des interventions sur la campagne N et N+1.....	28
Figure 2 : Distribution chronologique des mises bas à la campagne N+1 et répartition dans les lots de mise bas.....	29
Figure 3 : Evolution de la production laitière au cours des campagnes laitières N-1 et N à la Cazotte.....	29
Figure 4: Distribution des durées de la période sèche lors de la campagne N (n=268).	30
Figure 5 : Différentes rations distribuées au cours de la campagne laitière N.	32
Figure 6: Evolution des comptages cellulaires de tank au cours des campagnes laitières N+1 et N à la Cazotte.....	33
Figure 7 : Technique de palpation des ovins pour déterminer la note d'état corporel (d'après THOMPSON et al, 1994).....	36
Figure 8 : Critères pris en compte pour évaluer la conformation de la mamelle (d'après J. LABUSSIÈRE <i>et al</i> , 1990).	39
Figure 9 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre la mise bas et le prélèvement à J ₄ (n=260).	46
Figure 10 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre le prélèvement à J ₄ et la repasse (n=268).	47
Figure 11 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre la mise bas et le prélèvement à J ₁₀ (n=235).	47
Figure 12 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre la mise bas et le prélèvement à J ₄₀ (n=248).	48
Figure 13 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre la mise bas et le prélèvement J ₀ pour PCR (n=259).	50
Figure 14: Stratégie diagnostique en cas de résultat négatif en PCR <i>Staphylococcus spp.</i>	51
Figure 15 : Stratégie diagnostique en cas de résultat positif en PCR <i>Staphylococcus spp.</i> pour au moins une des 4 dates.....	52
Figure 16 : Répartition des échantillons par date de prélèvements selon les plaques d'amplification..	53
Figure 17: Variation en fonction du stade de lactation des seuils établis pour prédire le statut infectieux d'une mamelle sur la foi des comptages cellulaires (campagne N).	56

Figure 18 : Répartition des brebis en fonction du nombre d'applications de la solution de trempage iodée avant la mise bas.....	61
Figure 19 : Répartition des brebis en fonction de la durée de l'application quotidienne de chlorhexidine et ammoniums quaternaires.....	62
Figure 20 : Mise en place des traitements antiseptiques <i>pre</i> et <i>post partum</i>	63
Figure 21 : Variation des seuils supérieurs et inférieurs selon la date du contrôle laitier (critère 2). ...	67
Figure 22 : Représentation des seuils inférieurs et supérieurs et détermination de trois classes de valeurs cellulaires.....	70
Figure 23: Caractérisation du statut des hémi-mamelles au tarissement (critère 4).....	72
Figure 24 : Caractérisation du statut cytologique d'une hémi-mamelle à la mise bas.	74
Figure 25: Détermination de deux seuils pour la caractérisation du statut bactériologique dans le cadre du critère 6 (courbe-type).	76
Figure 26 : Répartition des brebis en fonction de leur rang de lactation.....	82
Figure 27 : Répartition des brebis en fonction leur stade de lactation.	83
Figure 28 : Répartition des brebis en fonction de leur production laitière.....	83
Figure 29: Moyennes géométriques des aires sous la courbe de production laitière (campagne N).....	84
Figure 30 : Répartition des brebis en fonction de leur index cellules.	85
Figure 31 : Répartition des brebis en fonction de leur index lait.	85
Figure 32 : Répartition des brebis en fonction de leur index production.	85
Figure 33: Répartition des statuts cliniques (campagne N, critère 1).....	86
Figure 34: Répartition des statuts cellulaires des mamelles (campagne N, critère 2).....	89
Figure 35: Répartition des statuts cellulaires des mamelles (campagne N, critère 3).....	90
Figure 36 : Répartition des mammites en fonction de la durée de l'inflammation (campagne N).....	92
Figure 37 : Répartition des mammites en fonction du début de l'inflammation (campagne N).	92
Figure 38 : Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires des trois lots lors de la campagne N.	93
Figure 39: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires des trois lots pour les trois derniers contrôles laitiers (campagne N).	93
Figure 40 : Répartition des statuts cellulaires des hémi-mamelles (campagne N, critère 4).....	94
Figure 41: Répartition des statuts clinico-cellulaires des hémi-mamelles (campagne N, critère 5).....	95
Figure 42 : Répartition des statuts bactériologiques des hémi-mamelles (campagne N, critère 6).....	95
Figure 43 : Evolution des statuts au cours de la période sèche pour les 6 critères.....	97
Figure 44 : Taux d'élimination stricte des signes cliniques (critère 1).	98
Figure 45 : Différents taux d'élimination des signes cliniques (critère 1).	99

Figure 46 : Taux d'élimination stricte des signes cliniques entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 1).....	100
Figure 47 : Différents taux d'élimination des signes cliniques entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 1).....	100
Figure 48 : Taux de nouvelles mammites cliniques (critère 1).	101
Figure 49 : Différents taux d'apparition de nouvelles mammites cliniques (critère 1).....	102
Figure 50 : Taux de nouvelles mammites cliniques entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 1).....	102
Figure 51 : Taux de nouvelles mammites cliniques entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 1).....	103
Figure 52 : Taux de nouvelles mammites cliniques en fonction de la pratique de l'antisepsie (critère 1).	104
Figure 53 : Pourcentage de nouvelles mammites cliniques en fonction de l'antisepsie et du traitement intra-mammaire (critère 1).	105
Figure 54 : Evolution des moyennes géométriques de production laitière pour les 3 lots en campagnes lactières N et N+1.	106
Figure 55 : Moyennes géométriques des aires sous la courbe de production laitière pour les 3 lots sur la campagne N+1.....	106
Figure 56 : Evolution des moyennes arithmétiques de production laitière pour les brebis traitées et non traitées sur les campagnes lactières N et N+1.....	107
Figure 57: Moyennes géométriques des aires sous la courbe de production laitière pour les mamelles traitées et non traitées sur la campagne N+1.....	107
Figure 58 : Evolution des moyennes géométriques des comptages cellulaires entre la campagne N et N+1 et comparaison des lots.	108
Figure 59: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires dans les 3 lots pour la campagne N+1.	109
Figure 60 : Evolution des moyennes géométriques des comptages cellulaires entre la campagne N et N+1 chez les brebis traitées et non traitées.	110
Figure 61: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires entre les mamelles traitées et non traitées pour les trois premiers contrôles lactiers de la campagne N+1.....	111
Figure 62: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires entre les mamelles traitées et non traitées pour la campagne N+1.	111
Figure 63: Taux d'élimination de l'inflammation (critère 2).	112
Figure 64 : Différents taux d'élimination de l'inflammation (critère 2).	113

Figure 65: Taux d'élimination de l'inflammation (critère 3).	114
Figure 66: Taux de nouvelles inflammations (critère 2).	115
Figure 67 : Différents taux de nouvelles inflammations (critère 2).	115
Figure 68 : Taux de nouvelles inflammations entre les mamelles traitées et non traitées (critère 2)..	116
Figure 69 : Différents taux de nouvelles inflammations entre les mamelles traitées et non traitées (critère 2).	116
Figure 70: Taux de nouvelles inflammations (critère 3).	117
Figure 71 : Taux de nouvelles inflammations entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 3).	118
Figure 72: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires par hémi-mamelle dans les 3 lots pour la campagne N+1.	119
Figure 73: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires par hémi-mamelle entre les hémi-mamelles traitées et non traitées pour la campagne N+1.	119
Figure 74 : Taux d'élimination de l'inflammation (critère 4).	120
Figure 75 : Différents taux d'élimination de l'inflammation (critère 4).	121
Figure 76 : Taux d'élimination de l'inflammation entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 4).	122
Figure 77 : Différents taux d'élimination de l'inflammation entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 4).	122
Figure 78 : Taux de nouvelles inflammations (critère 4).	123
Figure 79 : Différents taux de nouvelles inflammations (critère 4).	124
Figure 80 : Taux de nouvelles inflammations entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 4).	124
Figure 81 : Différents taux de nouvelles inflammations entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 4).	125
Figure 82 : Taux de nouvelles infections inflammations entre les hémi-mamelles qui ont reçu l'antisepsie et les autres (critère 4).	125
Figure 83 : Taux de nouvelles inflammations en fonction de l'antisepsie et du traitement intramammaire (critère 4).	126
Figure 84 : Taux d'élimination des mammites (critère 5).	127
Figure 85 : Taux d'élimination des mammites entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 5).	127
Figure 86 : Taux de nouvelles mammites (critère 5).	128

Figure 87 : Taux de nouvelles mammites entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 5).	129
Figure 88 : Taux de nouvelles mammites entre les hémi-mamelles ayant reçu l'antisepsie et les autres (critère 5).....	129
Figure 89 : Taux de nouvelles mammites en fonction de l'antisepsie et du traitement intra-mammaire.	130
Figure 90 : Répartition des contrôles internes en fonction de leur CT pour les 6 plaques réalisées. ...	131
Figure 91 : Moyennes des CT obtenus pour le contrôle interne dans es 6 « runs »	132
Figure 92 : Pourcentage de contrôles internes non amplifiés par date.	132
Figure 93 : Evolution des pourcentages de contrôles internes non amplifiés par date avant et après reprise de certains échantillons en dilution.	133
Figure 94 : Pourcentages de contrôles internes non amplifiés par date après reprise de certains échantillons en dilution.	134
Figure 95 : Gammes de dilution obtenues pour les 6 plaques.	135
Figure 96 : Corrélacion entre la première et la deuxième amplification.....	136
Figure 97: Répartition des résultats PCR obtenus à J _{FL} suivant le statut cellulaire des hémi-mamelles (critère 4).....	138
Figure 98 : Distribution des résultats PCR à J _{FL} (en CT).	139
Figure 99 : Distribution des résultats PCR à J _T (en CT).....	139
Figure 100 : Distribution des résultats PCR à J ₀ (en CT).....	140
Figure 101 : Distribution des résultats à J ₄ (en CT).....	140
Figure 102 : Evolution des résultats PCR <i>Staphylococcus spp.</i> aux différentes dates de prélèvement.	141
Figure 103: Taux de cessation d'excrétion dans les 3 lots (critère 6).	142
Figure 104: Comparaison des taux de cessation d'excrétion entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 6).....	143
Figure 105: Taux de nouvelles excréctions dans les 3 lots (critère 6).	143
Figure 106: Comparaison des taux de nouvelles excréctions entre les hémi-mamelles traitées et les hémi-mamelles non traitées (critère 6).	144
Figure 107: Pourcentages de nouvelles excréctions en fonction de l'antibiothérapie et de l'antisepsie (critère 6).....	145
Figure 108 : Pourcentages d'élimination de l'infection selon le lot pour l'ensemble des critères.	147
Figure 109 : Pourcentages d'élimination de l'infection selon le traitement pour l'ensemble des critères.	147

Figure 110 : Pourcentages de nouvelles infections selon le lot pour l'ensemble des critères.	149
Figure 111 : Pourcentages de nouvelles infections selon le traitement pour l'ensemble des critères.	149
Figure 112 : Taux d'élimination des signes cliniques selon le rang de lactation (critère 1).	152
Figure 113 : Taux d'apparition de signes cliniques entre les héli-mamelles traitées et non traitées (critère 1).	153
Figure 114 : Taux d'apparition de signes cliniques selon le rang de lactation (critère 1).	154
Figure 115 : Taux d'apparition de signes cliniques selon le lot de mise bas à la campagne N (critère 1).	154
Figure 116 : Taux d'apparition de signes cliniques selon le lot (critère 1).	155
Figure 117 : Taux d'apparition de signes cliniques selon l'aire sous la courbe des cellules sur la campagne N (critère 1).	156
Figure 118 : Odds ratio associés à l'apparition de signes cliniques (critère 1).	157
Figure 119 : Taux de nouvelles inflammations selon le taux d'urée (critère 4).	158
Figure 120 : Taux de nouvelles inflammations selon le lot de mise bas à la campagne laitière N (critère 4).	159
Figure 121 : Taux de nouvelles inflammations selon le taux d'urée (critère 4).	160
Figure 122 : Taux de nouvelles inflammations selon l'aire sous la courbe de la production laitière au cours de la campagne laitière N (critère 4).	161
Figure 123 : Odds ratios associés aux nouvelles inflammations (critère 4).	162
Figure 124 : Taux de cessation d'excrétion selon le début de l'infection au cours de la campagne N (critère 6).	163
Figure 125 : Taux de cessation d'excrétion selon la durée de l'infection au cours de la campagne N (critère 6).	164
Figure 126 : Taux de cessation d'excrétion selon l'index cellulaire (critère 6).	165
Figure 127 : Odds ratios associés à la cessation d'excrétion (critère 6).	166
Figure 128 : Taux de nouvelles excréctions selon le traitement (critère 6).	167
Figure 129 : Taux de nouvelles excréctions selon le lot de mise bas à N+1 (critère 6).	167
Figure 130 : Taux de nouvelles excréctions selon l'aire sous la courbe des comptages cellulaires au cours de la campagne N (critère 6).	168
Figure 131 : Taux de nouvelles excréctions selon l'aire sous la courbe des comptages cellulaires des 3 derniers contrôles laitiers (critère 6).	169
Figure 132 : Odds ratios associés aux nouvelles excréctions (critère 6).	170
Figure 133 : Pourcentage de nouvelles infections en fonction de l'héli-mamelle contro-latérale (traitée ou non) (critères 1, 4 et 6).	171

Tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques de la bergerie et recommandations actuelles (Institut de l'élevage ou Confédération de Roquefort).....	31
Tableau 2 : Paramètres estimés (contrôle laitier officiel).....	43
Tableau 3 : Dates des prélèvements de lait pour les comptages cellulaires individuels lors de la campagne N.....	44
Tableau 4 : Dates des prélèvements de lait pour le comptage cellulaire lors de la campagne N+1.	45
Tableau 5 : Variation des seuils inférieurs en fonction du rang de lactation (critère 2).....	67
Tableau 6 : Valeurs de pondération appliquées en fonction du grade des déséquilibres.	68
Tableau 7 : Variation en fonction du stade et du rang de lactation des seuils établis pour définir le statut cellulaire d'une hémi-mamelle en fin de campagne N (critère 4).....	69
Tableau 8 : Variation en fonction du stade et du rang de lactation des seuils établis pour définir le statut cellulaire d'une hémi-mamelle en début de campagne N+1 (critère4).....	69
Tableau 9: Synthèse des 6 critères permettant de définir le statut d'une mamelle (ou d'une hémi-mamelle).....	77
Tableau 10 : Correspondance entre les statuts et la sélection des mamelles et des hémi-mamelles à traiter.	78
Tableau 11 : Evolution des statuts entre la fin de la campagne N et le début de la campagne N+1.	79
Tableau 12 : Effectifs par lot.....	81
Tableau 13 : Répartition des nombres de brebis en fonction de la conformation de leur mamelle (campagne N).	87
Tableau 14 : Répartition des nombres de brebis en fonction des déséquilibres de la mamelle (campagne N).	87
Tableau 15 : Répartition des nombres de brebis en fonction de la présence d'adénomégalie à J _{FL} (campagne N).	88
Tableau 16 : Répartition des nombres de brebis en fonction de la présence d'adénomégalie à J _T (campagne N).	88
Tableau 17 : Répartition des nombres de brebis avec une note d'état corporel (NEC) < inférieure à 2 à la campagne N.....	89
Tableau 18 : Répartition des nombres de brebis en fonction du nombre de mammites (campagne N).	91
Tableau 19 : Répartition des cas de mammites cliniques (campagne N+1).	98
Tableau 20 : CT obtenus pour la gamme de dilution selon les plaques	134

Tableau 21 : Corrélation entre les CT (x) et le nombre de <i>Staphylococcus spp.</i> par volume réactionnel de PCR(y) pour chaque plaque.....	135
Tableau 22 : Coefficients de détermination entre la première et la deuxième amplification selon les seuils choisis.....	137
Tableau 23: Comparaison des pourcentages d'élimination de l'infection selon les différents critères.	146
Tableau 24: Comparaison des pourcentages de nouvelles infections selon les différents critères.....	148
Tableau 25 : Variables qualitatives	150
Tableau 26: Dates des prélèvements bactériologiques pour différentes études portant sur le traitement au tarissement.....	185
Tableau 27: Antibiotiques intra-mammaires utilisés et résultats obtenus lors des essais relatifs à la brebis laitière.....	205
Tableau 28: Facteurs de risque de mammites décrits dans la littérature lors d'essais sur le traitement au tarissement chez les ovins et les bovins.	212

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
Campagne N	Campagne laitière 2013-2014
Campagne N+1	Campagne laitière 2014-2015
CCI	Comptage Cellulaire Individuel
CCS	Comptage de Cellules Somatiques
CCSI	Comptage de Cellules Somatiques Individuel
CCT	Comptage Cellulaire de Tank
CLO	Contrôle Laitier Officiel
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CMT	California Mastitis Test
CT	Cycle Threshold
EC	Examen clinique
EI	Elimination d'infection
ENVT	Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
INRA	Institut National de Recherche Agronomique
J _{FL}	Jour de prélèvement en Fin de Lactation (27 mai 2014), campagne laitière N
J _T	Jour de prélèvement au Tarissement (15 juillet 2014), campagne laitière N
J ₀	Jour de prélèvement à la mise bas, campagne laitière N+1
J ₄	Jour de prélèvement à 4 jours <i>post partum</i> , campagne laitière N+1
J ₁₀	Jour de prélèvement à 10 jours <i>post partum</i> , campagne laitière N+1
J ₄₀	Jour de prélèvement à 40 jours <i>post partum</i> , campagne laitière N+1
Lot A	Lot de brebis ayant reçu un traitement exhaustif (toutes les hémimamelles de toutes les brebis ont été traitées)

Lot B	Lot de brebis ayant reçu un traitement sélectif à l'échelle de la mamelle
Lot C	Lot de brebis ayant reçu un traitement sélectif à l'échelle de l'hémi-mamelle
PCR	Polymerase Chain Reaction
SCS	Score de cellules somatiques
SCN	Staphylocoques à Coagulase Négative
SCP	Staphylocoques à Coagulase Positive

INTRODUCTION

Une utilisation excessive des antibiotiques en médecine vétérinaire peut conduire à la sélection de gènes de résistance bactérienne à certaines familles d'anti-infectieux, et par suite à des échecs thérapeutiques voire à la réduction partielle de l'arsenal thérapeutique. En plus de la flore des foyers infectieux, les flores commensales complexes de l'appareil digestif, respiratoire, ou encore de la peau, peuvent après certains traitements, se trouver déséquilibrées au profit de bactéries résistantes et en contact avec le milieu extérieur. Au-delà, d'autres conséquences moins visibles pour l'éleveur, mais tout aussi préoccupantes peuvent survenir : élimination de métabolites actifs dans l'environnement et, d'autre part, risque de diffusion à l'homme de bactéries zoonotiques multi-résistantes ou de réduction de l'efficacité de certaines classes d'antibiotiques humains.

Dans ce cadre, un plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire a été lancé en 2011 sous le nom de plan Ecoantibio 2017. Ses deux principaux buts sont de diminuer la contribution des antibiotiques vétérinaires à l'émergence de résistances chez les bactéries et de préserver les anti-infectieux utilisables chez l'animal dans un contexte d'innovation pharmaceutique réduite. L'évaluation et le contrôle des risques d'antibiorésistance supposent en premier lieu d'identifier les différentes modalités d'utilisation des antibiotiques vétérinaires aujourd'hui en France. Si le traitement curatif paraît encore aujourd'hui le plus justifié, le traitement métaphylactique est discuté compte tenu de l'acception trop large de ce terme pour être appliquée à toutes les filières et à toutes les situations : la notion d'antibiothérapie ciblée sur des animaux présentant une « forte probabilité » de devenir malades du fait de leur contact « étroit » avec des congénères déjà atteints nécessiterait une définition précise adaptée à chaque type de production et aux principaux couples bactéries-antibiotiques. Mais c'est logiquement le traitement préventif qui paraît aujourd'hui le plus préoccupant : traiter des groupes d'animaux sains, exposés à un « facteur de risque » général (sevrage, tarissement,...) dont l'acuité n'est en général pas définie dans le cas particulier de chaque groupe d'élevage, peut constituer une pratique à risque

lorsque la précaution systématisée voire l'habitude se substituent à une véritable indication raisonnée.

Chez les ruminants laitiers, deux de ces pratiques « historiques » de traitement préventif sont aujourd'hui particulièrement controversées : l'antibiothérapie des jeunes au sevrage (en particulier par aliment médicamenteux) et l'antibiothérapie au tarissement. Cette dernière arrive au premier plan des « pratiques à risque à abandonner à terme » selon l'avis de l'ANSES relatif aux « Risques d'émergence d'antibiorésistances liées aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale » (avril 2014). Les experts recommandent « d'engager sans tarder la mise au point de mesures » visant à supprimer, à terme, cette pratique à risque. Cet avis émis essentiellement pour la vache laitière paraît en partie inspiré par l'existence de fait d'une alternative efficace et élégante : l'utilisation d'obturateurs internes sans substance active. Chez les ovins laitiers, la problématique du traitement préventif au tarissement revêt une importance plus grande encore du fait d'un faisceau convergent de trois types d'arguments :

- sur le plan de l'antibiorésistance d'abord : le risque de sélection de bactéries résistantes, bien qu'inférieur par voie intra-mammaire aux voies orale et parentérales, est souligné chez les bovins laitiers (SAINI, 2012) et pourrait être majoré pour les espèces à la fois laitières et allaitantes. L'utilisation de spécialités fortement rémanentes est associée à la présence de résidus *post partum* à des concentrations faibles (CHAFFER, 2003) et donc à leur contact avec la flore digestive des agneaux,
- sur le plan de l'efficacité du traitement surtout : le rapport coût-bénéfice de la prévention est-il favorable dans les diverses conditions d'élevages alors que les périodes sèches durent 3 à 5 mois ? Est-il économiquement justifié de viser une prévention systématique dans nos grands élevages intensifs (400 à 1000 brebis) alors que l'incidence annuelle moyenne des mammites cliniques est de l'ordre de 5% ?,
- sur le plan des inconvénients et des risques enfin : la pratique fréquente du traitement exhaustif du troupeau (toutes les brebis) est synonyme d'un coût financier important et d'un risque majoré d'infections intra-mammaires associées

(pathogènes opportunistes). Ces deux contraintes font également partie des raisons expliquant l'absence actuelle d'utilisation d'obturateurs internes chez les ovins.

Même si la pratique du traitement exhaustif est en grande partie liée au haut degré de synchronisation des cycles de production, un traitement à caractère sélectif semblerait donc plus pertinent tout particulièrement chez les ovins laitiers. De plus, ciblant prioritairement les glandes mammaires infectées, il permettrait de conjuguer prudence épidémiologique (antibiorésistance), réalisme économique et efficacité curative, caractéristique de choix pour ces filières fromagères majoritairement au lait cru. En effet, l'efficacité curative du traitement intra-mammaire au tarissement est aujourd'hui mieux établie, selon des plans d'étude correspondant à un traitement exhaustif, que l'efficacité préventive (CONTE, 2007).

Dans ce contexte, les objectifs de notre travail ont été de deux ordres :

- évaluation de l'efficacité de l'antibiothérapie intra-mammaire sélective ciblée sur les glandes mammaires infectées (par comparaison avec une antibiothérapie exhaustive),
- identification des facteurs (liés à l'animal ou à la conduite) associés à l'apparition de nouvelles infections (en priorité) et à l'élimination des infections existantes.

Pour ce faire, nous avons mis en œuvre un essai contrôlé dans un élevage ovin laitier du bassin de Roquefort. Nous en présenterons classiquement les méthodes puis les résultats avant de les discuter sur le plan de la thérapeutique et des conséquences opérationnelles dans le cadre du plan Ecoantibio 2017.

MATERIEL ET METHODES

I. Présentation de l'essai

Méthodologiquement, l'essai mis en œuvre pour la présente étude était de type :

- « uni-centrique » : réalisation de l'ensemble des enregistrements et traitements dans un élevage ovin laitier du bassin de Roquefort
- comparatif : suivi de trois lots, le premier traité exhaustivement (lot témoin), le deuxième traité sélectivement à l'échelon de l'animal (mamelle) et le troisième traité sélectivement à l'échelon de l'hémi-mamelle
- stratifié-randomisé : pour la constitution des trois lots, l'ensemble du troupeau a d'abord fait l'objet d'une stratification utilisant les différentes caractéristiques et performances des animaux pouvant être valorisées ; dans un second temps, un tirage au sort dans chaque strate a permis la création de trois lots homogènes
- en « double-aveugle » : ni les expérimentateurs (ENVT), ni l'équipe technique de l'élevage ne connaissait la composition des trois lots
- longitudinal : une comparaison de type avant-après (traitement) a été mis en œuvre ; elle a couvert les campagnes lactières N et N+1, soit de novembre 2013 à juillet 2015 (20 mois) (Figure 1).

Ce cadre méthodologique est issu de la consultation des sites spécialisés suivants :

- National Mastitis Council (NMC) (<http://www.nmconline.org/info.htm>),
- Agence européenne d'évaluation des produits médicaux (EMA) (<http://www.emea.eu.int/hums/vet/vetguidelines/background.htm>),
- Fédération Internationale de Laiterie (FIL-IDF) (<http://www.fil-idf.org>),
- et littérature spécialisée (articles portant sur des essais thérapeutiques).

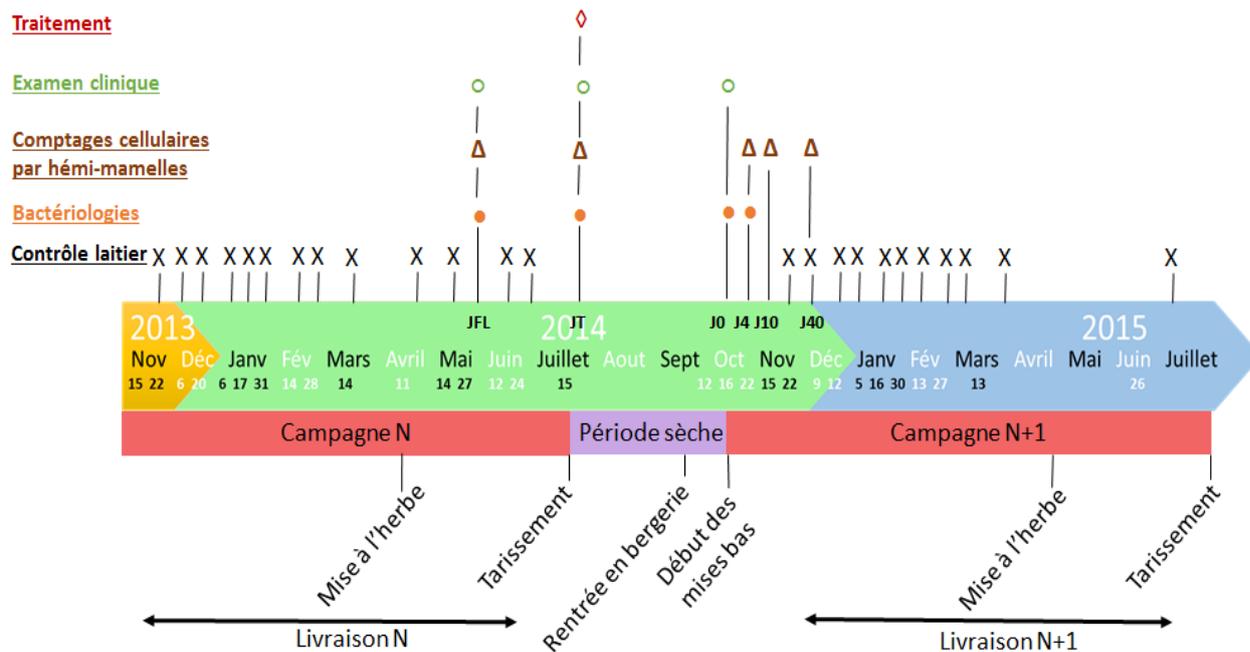


Figure 1: Chronologie des interventions sur la campagne N et N+1.

La suite du paragraphe Matériel et méthodes est présentée dans l'ordre chronologique de réalisation effective.

II. Elevage et animaux

1. Elevage de la Cazotte

L'essai a été conduit dans l'exploitation du lycée agricole de la Cazotte, à Saint-Affrique, Aveyron. Il s'agit d'un élevage de type « commercial », présentant toutes les caractéristiques zootechniques représentatives des unités de production du bassin de Roquefort. Le cheptel comprenait environ 430 brebis laitières, dont 100 agnelles, de race Lacaune. Le lait était destiné à la production de Roquefort.

a. **Reproduction**

La reproduction s'est faite en insémination artificielle et, en cas de retours, les brebis ont été fécondées en monte naturelle. Les inséminations ont eu lieu fin mai pour les adultes, en prévision des agnelages se situant entre mi-octobre et début novembre (Figure 2). Les

agnelles ont été inséminées un mois après, vers fin juin. En 2013, la fertilité globale a été de 95,16% et la prolificité de 177%.

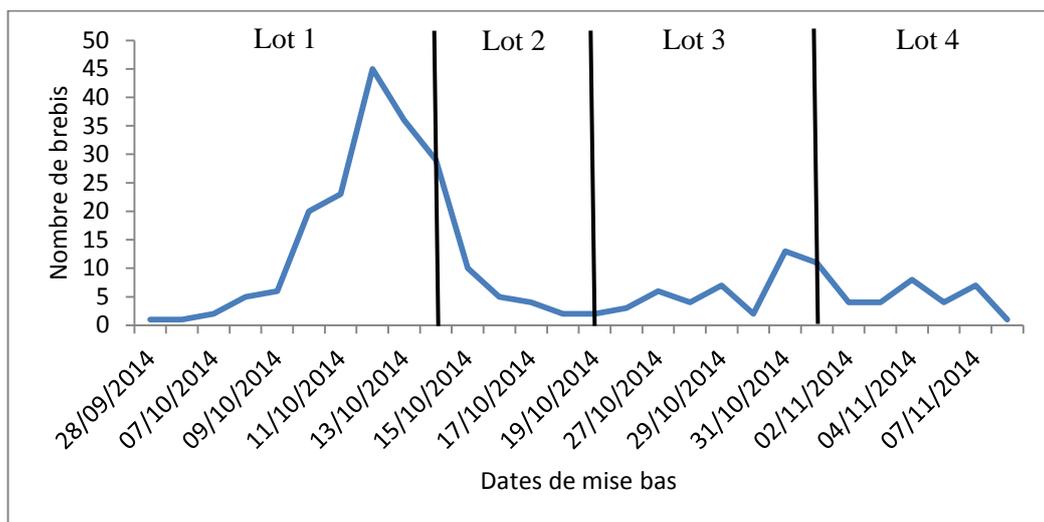


Figure 2 : Distribution chronologique des mises bas à la campagne N+1 et répartition dans les lots de mise bas.

b. Production laitière

L'objectif à la Cazotte est de commencer la livraison le 15 novembre afin que les deux tiers de la production soient réalisés vers mi-février. Les 400 brebis laitières étaient donc traitées deux fois par jour, selon le cahier des charges de l'AOC Roquefort, de novembre à juin, pour une production moyenne de 303 litres par brebis sur la campagne N (soit 122 400 litres de lait vendus).



Figure 3 : Evolution de la production laitière au cours des campagnes laitières N-1 et N à la Cazotte.

La cessation de production a été obtenue, après la dernière livraison de lait, par espacement des traites au cours du mois de juin. Le tarissement a eu lieu en deux temps : une petite partie du troupeau (environ une vingtaine de brebis de persistance laitière faible) a été tarie précocement. Le reste des brebis a été tari deux semaines plus tard, vers début juillet.

La période sèche s'est étendue de début juillet (jour de la dernière traite) à début octobre (jour de l'agnelage). Lors de la campagne N, la période sèche a duré de 79 à plus de 130 jours suivant les brebis, pour une moyenne de 96,48 jours \pm 11,42 (Figure 4).

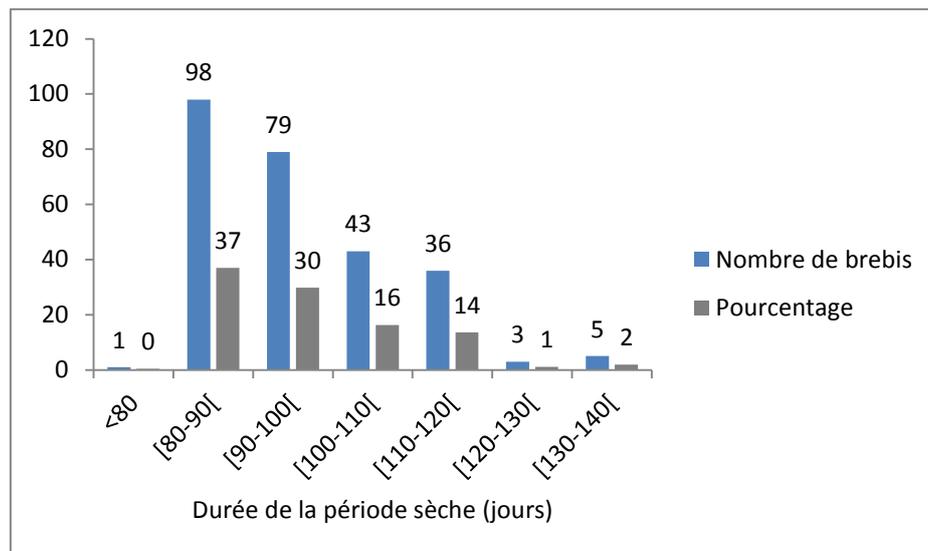


Figure 4: Distribution des durées de la période sèche lors de la campagne N (n=268).

L'allaitement a duré de 21 à 28 jours suivant les lots de brebis. Une partie des agnelles a été gardée pour le renouvellement (environ une centaine), le reste a été vendu pour l'engraissement.

c. Bergerie

Les paramètres caractérisant la bergerie sont présentés au Tableau 1, ainsi que les recommandations correspondantes.

Tableau 1 : Caractéristiques de la bergerie et recommandations actuelles (Institut de l'élevage ou Confédération de Roquefort).

Paramètres		Bergerie de la Cazotte	Recommandations
Orientation		Nord - Sud	
Surface (m ² /animal)	Brebis gravide	1,2	1,2
	Brebis allaitante	1,5	1,5
	Agneaux<2mois	0,25	0,25
	Agnelles	0,70	0,70
Paillage	Fréquence	1 fois / jour ou tous les 2 jours	2 fois / jour
	Quantité	1 kg/brebis/jour	0,9 kg/brebis/jour
	Type paille	Orge + Blé	Orge + Blé
Curage	Fréquence	6 semaines	4 à 5 semaines

d. Alimentation

Les brebis ont été mises à l'herbe de début avril à mi-septembre (le site de la Cazotte comprend 13,8 hectares d'herbe à pâturer). Leur ration était alors principalement composée d'herbe complémentée par de l'orge. La ration hivernale se composait d'une base de foin, d'ensilage d'herbe et d'ensilage de maïs. Elle a été complémentée par de la luzerne déshydratée, du tourteau et de l'orge. De plus, un concentré de production a été distribué pendant la traite lors de la période de production, c'est-à-dire de novembre à juin. La distribution des différents types de ration au cours de la campagne laitière N est représentée à la Figure 5. Les apports énergétiques, protéiques, minéraux et vitaminés de chaque aliment sont détaillés en Annexe 1.

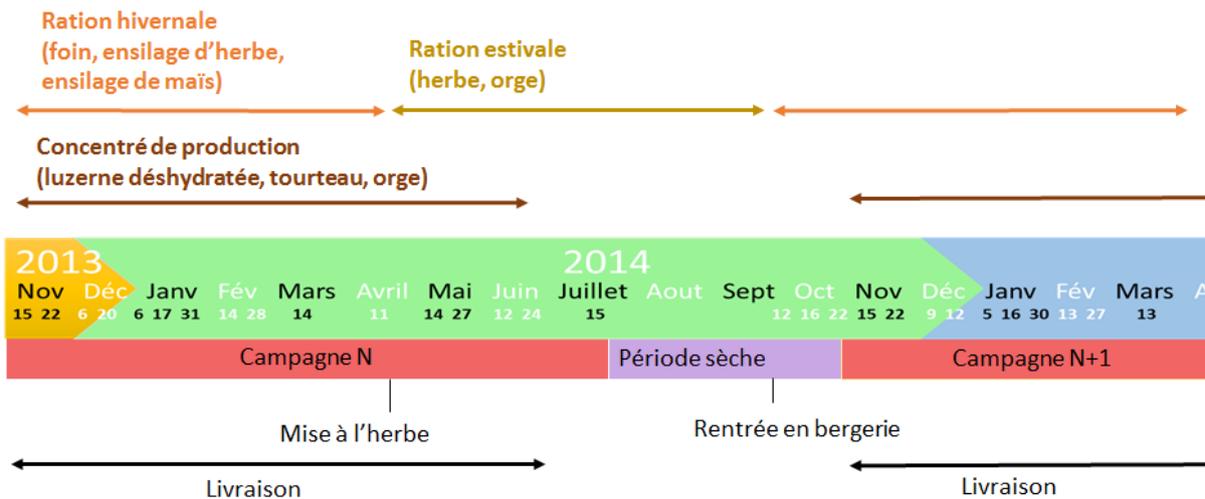


Figure 5 : Différentes rations distribuées au cours de la campagne laitière N.

e. Essais nutritionnels

Le troupeau de brebis laitière servait également de support d'expérimentation pour différents essais. Des travaux ont été menés par l'INRA, dans le cadre du groupe Alimentation du CNBL (Comité National Brebis Laitière), afin de réévaluer la capacité d'ingestion des brebis laitières. Les thématiques d'expérimentation portaient surtout sur l'alimentation et la qualité du lait, ou encore sur l'effet des niveaux d'apport énergétiques ou azotés de certains aliments (luzerne déshydratée, pois, lupin, oligo-éléments...). Pour cela, des lots ont été constitués au sein du troupeau, chacun recevant une alimentation différente. Néanmoins, lors de la plus grande partie de notre étude (de la fin de la campagne N au début de la campagne N+1), l'ensemble du troupeau a été nourri de façon identique. Les derniers essais réalisés ont pris fin le 15 mars 2014. Les différences d'apports énergétiques et protéiques entre les lots constitués pour ces expérimentations sont données en Annexe 2.

f. Machine à traire

La machine à traire utilisée dans l'exploitation est une 2x20 postes en ligne haute. Le décrochage est automatique avec des temporisations allant de 3 minutes en début de campagne à 1 minute à la fin. Un contrôle Optitraite® est réalisé chaque année en début de campagne. Les valeurs des principaux paramètres de traite sont les suivantes (Annexe 3) :

- Niveau de vide : 37,9 kPa
- Réserve réelle : 1 800 L/min
- Pulsations simultanées et individuelles
- Fréquence de pulsation : 51-49%.

g. Gestion des mammites

Lors de mammites cliniques, un traitement antibiotique a été mis en place et le lait a été écarté. Au cours de la campagne laitière N, 11 brebis dont 2 agnelles ont également présenté des mammites cliniques gangréneuses. Sur les 11 brebis, 3 sont mortes et les autres ont été réformées ou sont parties sur un autre site.

Habituellement, aucun traitement antibiotique systématique n'est réalisé au tarissement. Néanmoins, le comptage cellulaire sur lait de tank a dépassé plusieurs fois le seuil de 500 000 cellules/ml au cours de la campagne N, indiquant la présence de mammites subcliniques ou chroniques au sein du troupeau. La moyenne des comptages cellulaires individuels pour la campagne N est de 320 000 cellules/ml (moyenne arithmétique).

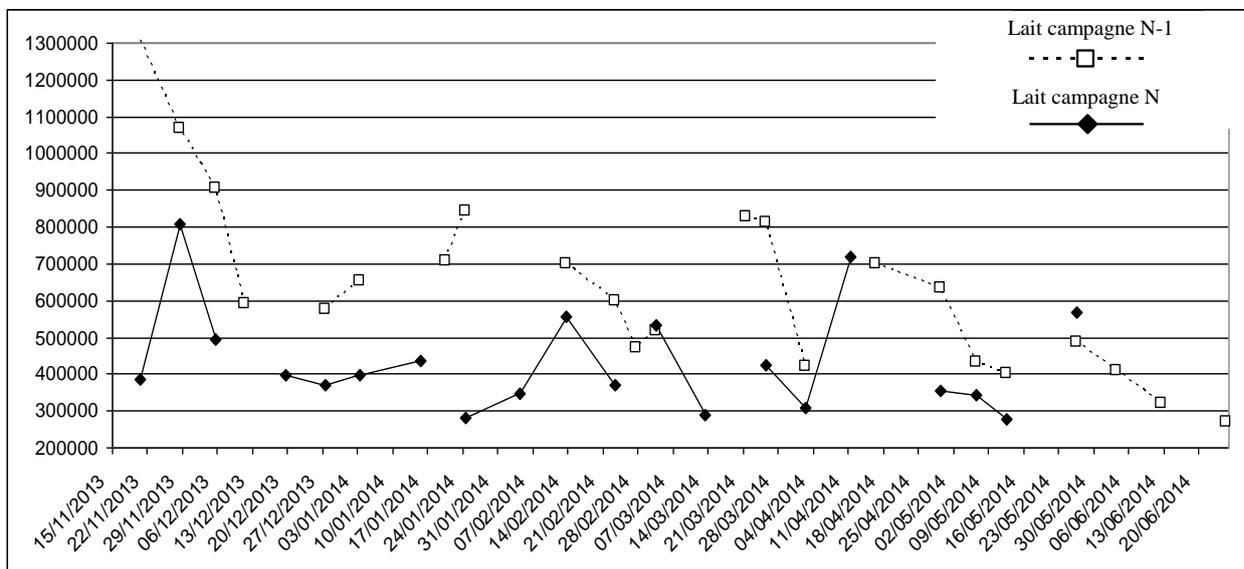


Figure 6: Evolution des comptages cellulaires de tank au cours des campagnes lactières N+1 et N à la Cazotte.

2. Critères de sélection des animaux

a. Critères de non inclusion

Au début de l'essai, 350 brebis de race Lacaune étaient présentes dans le troupeau (parité = $2,4 \pm 1,5$). Les critères de non inclusion ont porté sur :

- les brebis dont la réforme était prévue à la fin de la campagne laitière N,
- les brebis ayant présenté une mammite clinique lors de la campagne N.

Ainsi, 311 brebis ont été incluses dans l'essai et ont été réparties en 3 lots avant le tarissement.

b. Critères d'exclusion

Lors de la campagne laitière suivante, certaines brebis ont dû être retirées de l'essai. Les critères d'exclusion lors de la campagne laitière N+1 ont porté sur les points suivants :

- les brebis n'ayant pas mis bas entre le 10 octobre 2014 (pic d'agnelage) et le 10 novembre 2014 (retours tardifs), soit une trentaine d'animaux,
- les brebis qui ont été déplacées ou qui sont mortes lors de la période sèche, soit une dizaine d'animaux.

La morbidité ou la mortalité pendant la campagne laitière N+1 n'a pas constitué un critère d'exclusion. Au total, 268 brebis ont pu faire partie de l'essai (parité = $2,3 \pm 1,4$).

III. Méthodes cliniques et analytiques

1. Données cliniques

a. Calendrier des interventions

Des examens cliniques généraux et de la mamelle ont été réalisés à plusieurs reprises au cours de l'étude (Figure 1). Un premier examen été effectué le 27 mai 2014 (J_{FL}), à la fin de la campagne N, afin d'évaluer les signes indicateurs d'inflammation présents en fin de

lactation et de les confronter aux résultats des comptages cellulaires et de la bactériologie réalisés le même jour. Un autre examen a été effectué le jour du tarissement (J_T), correspondant au jour du traitement antibiotique intra-mammaire. Le troisième examen a été réalisé 4 jours après la mise bas pour rechercher les modifications présentes dès le début de la lactation.

Les examens ont été réalisés soit en salle de traite (à J_{FL} et J_T), soit dans la bergerie, au cornadis (à J_4). A J_{FL} , un même opérateur a effectué l'ensemble des examens cliniques extra-mammaires et mammaires, et a formé deux autres opérateurs. A J_T et à J_4 , ces deux opérateurs ont effectué les examens cliniques. Un certain nombre de brebis a été examiné en triplicata pour vérifier l'homogénéité des observations entre les différents opérateurs.

Une autre thèse vétérinaire, concomitante et faisant partie du même programme de recherche (ovins laitiers), a caractérisé les paramètres de répétabilité et de reproductibilité moyennes associés aux inspections-palpations mammaires.

b. Examen clinique extra-mammaire

Note d'état corporel

Nous avons attribué une note d'état corporel (NEC) à chaque brebis au moment du tarissement et après la mise-bas. La note d'état corporel a été estimée en pratiquant une palpation lombaire par pression des doigts au niveau de la colonne vertébrale et sur les côtes, immédiatement derrière la dernière côte.

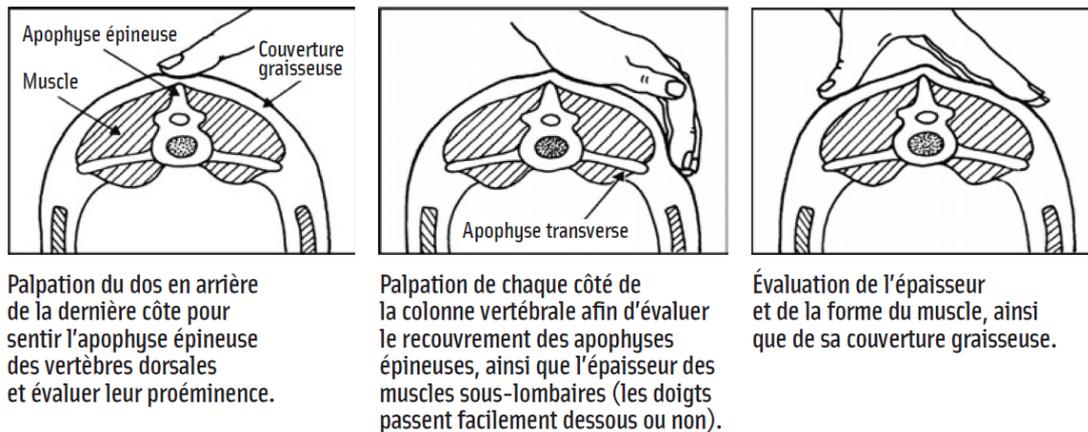


Figure 7 : Technique de palpation des ovins pour déterminer la note d'état corporel (d'après THOMPSON et al, 1994).

Boiterie, mobilité

En observant les brebis dans la bergerie, nous avons identifié les brebis présentant des boiteries ou des difficultés locomotrices. Nous avons utilisé la codification suivante :

- 0 : absence de problème locomoteur,
- 1 : présence d'une boiterie ou d'une gêne à la locomotion.

Température rectale

Dans la semaine suivant la mise bas, nous avons mesuré la température rectale de chaque brebis, systématiquement après la traite du matin.

Écoulements vulvaires

Lors de la semaine suivant la mise-bas, nous avons également noté les brebis avec des écoulements vulvaires en quantité importante, de couleur ou d'aspects anormaux. Nous les avons notés comme suit :

- 0 : absence d'écoulement,
- 1 (aspect des écoulements) : présence d'écoulements, en caractérisant l'aspect de l'écoulement.

Autres

Nous avons aussi noté toute anomalie clinique affectant les adultes (présence d'abcès, jetage ou écoulements nasaux, toux, comportement anormal, abattement...).

c. Examen clinique mammaire

o Inspection de la mamelle avant la traite

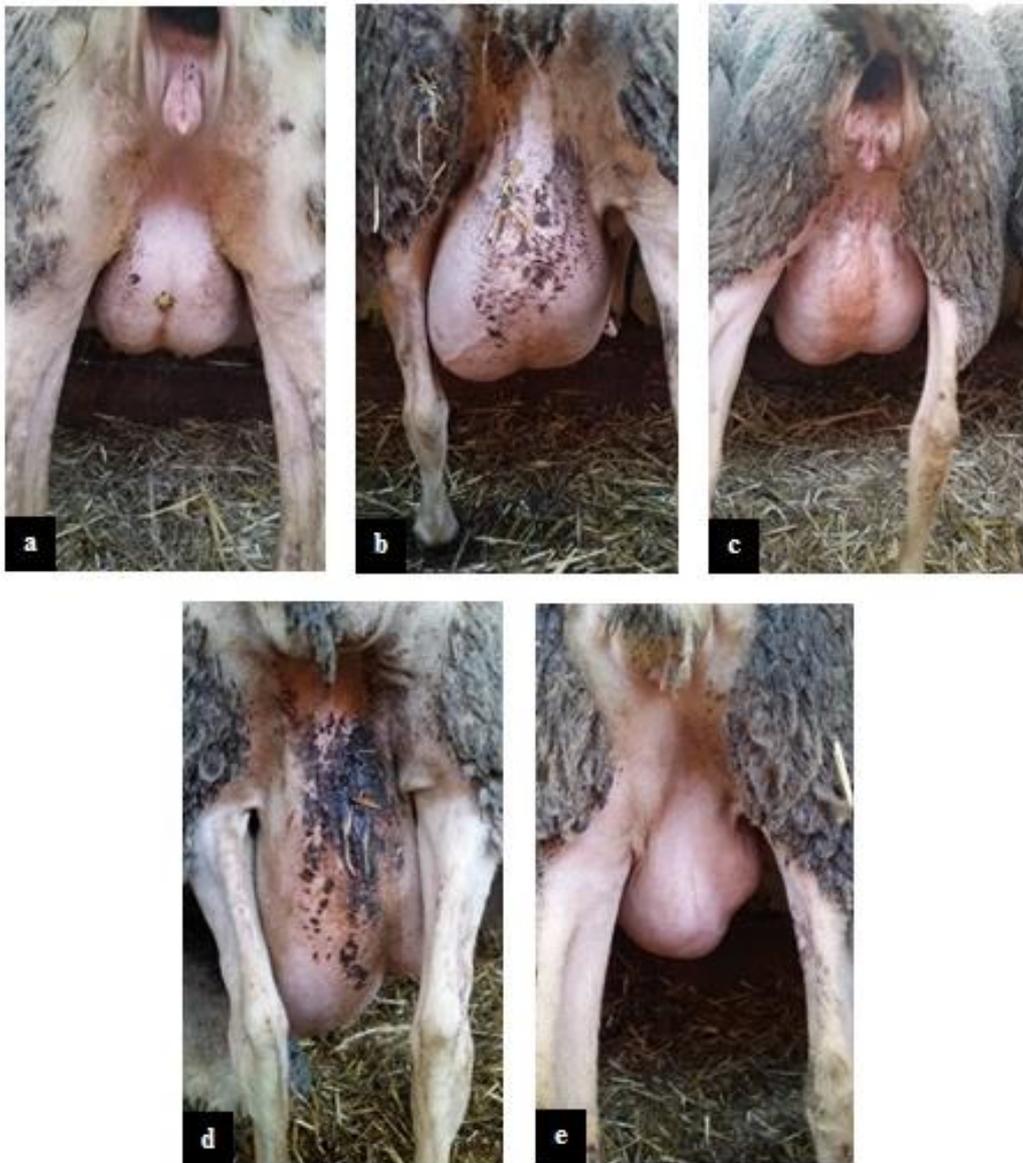
L'inspection des mamelles a été réalisée avant la traite, soit sur le quai de traite et avant que l'éleveur ne branche les faisceaux-trayeurs, soit en bergerie pour la semaine suivant la mise-bas. Cette inspection a donc été réalisée sur mamelle pleine.

Asymétrie mammaire

Pour évaluer une asymétrie mammaire, ou déséquilibre, entre les deux glandes, l'opérateur se place derrière l'animal et le regard est placé au niveau de la mamelle pour bien apprécier la différence latéro-latérale de niveau. L'importance du déséquilibre a été notée comme suit :

- 0 : normal (pis symétrique),
- 1 : très léger déséquilibre,
- 2 : léger déséquilibre,
- 3 : fort déséquilibre,
- 4 : atrophie unilatérale.

Lorsqu'il y avait présence d'un déséquilibre (codifications 1, 2, 3 ou 4), la note a été attribuée au côté le plus petit.



Photographies 1 : Exemples de mamelles présentant des déséquilibres plus ou moins marqués (collection personnelle).

- (a) Pis symétrique,**
- (b) Très léger déséquilibre,**
- (c) Léger déséquilibre,**
- (d) Fort déséquilibre,**
- (e) Atrophie unilatérale.**

Conformation mammaire

L'inspection des mamelles pleines nous a également permis d'évaluer leur conformation ou morphologie. Nous nous sommes limitées à l'enregistrement d'un

paramètre : la distance « plancher-jarret ». Les mamelles dont la distance « plancher-jarret » est faible, voire négative, sont dites « décrochées ». Elles sont souvent caractérisées par un positionnement haut des trayons (citerne difficile à vidanger). La gradation utilisée était fondée sur l'inclinaison des trayons et la hauteur de la citerne. Un « décrochage » important se caractérise fréquemment par des trayons sub-horizontaux sous lesquels une partie de la citerne se vidange difficilement (Figure 8). Nous avons noté les résultats de la façon suivante :

- 0 : normal,
- 1 : légèrement « décrochée »,
- 2 : fortement « décroché ».

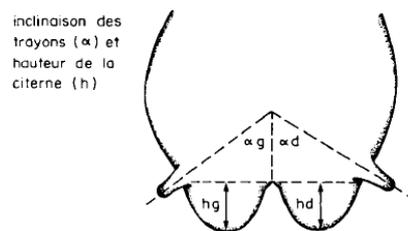


Figure 8 : Critères pris en compte pour évaluer la conformation de la mamelle (d'après J. LABUSSIÈRE *et al*, 1990).



Photographie 2 : Position haute des trayons (collection personnelle).

- *Palpation de la mamelle après la traite*

Une fois l'inspection de la mamelle réalisée, les éleveurs commençaient la traite. A la fin de celle-ci, alors que les brebis sont toujours sur le quai de traite, nous avons effectué les palpations mammaires.

Induration diffuse

Le degré d'induration globale de l'hémi-mamelle a d'abord été évalué. Une partie seulement ou l'ensemble de la mamelle peut être modifié. Le côté anormal, voire les deux côtés en cas de double atteinte, ont été différenciés selon les grades suivants :

- 0 : pas d'induration (hémi-mamelle souple),
- 1 : induration discrète (consistance des lèvres),
- 2 : induration marquée (consistance de l'appendice nasal),
- 3 : induration très marquée (consistance du cartilage nasal),
- 4 : induration sévère (consistance du front),
- 5 : induration très sévère (« pis de bois »).

Nœuds lymphatiques supra-mammaires

Les nœuds lymphatiques supra-mammaires sont situés en arrière et au-dessus du parenchyme, de part et d'autre du ligament suspenseur, entourés de tissu adipeux. Nous avons palpé le(s) nœud(s) lymphatique(s) gauche(s) entre le pouce gauche et les autres doigts de la main gauche et le(s) nœud(s) lymphatique(s) droit(s) de la même manière avec la main droite. Nous avons noté la taille de chaque nœud lymphatique selon la grille de notation ci-dessous :

- 0 : introuvable ou impalpable,
- 1 : taille normale (plus petit ou de la même taille qu'une cerise aplatie),
- 2 : taille normale et un peu augmenté par rapport au nœud lymphatique ipso-latéral,
- 3 : réactionnel (plus gros qu'une cerise),
- 4 : réactionnel et un peu augmenté par rapport au nœud lymphatique ipso-latéral,
- 5 : très réactionnel (de la taille d'une noix ou plus gros),
- 6 : très réactionnel et un peu augmenté par rapport au nœud lymphatique ipso-latéral.

Abcès

Les abcès sont définis cliniquement comme des indurations focales, circulaires, situés dans le parenchyme mammaire (partie sécrétrice) ou en périphérie de celui-ci, parfois en zone ganglionnaire, exceptionnellement en zone citernale. Ils sont de nombre et de taille variables (tête d'épingle à balle de tennis). Leur consistance est dure à très dure et ils peuvent

éventuellement se fistuliser. De petits abcès superficiels peuvent également affecter la paroi des trayons.

Nous avons utilisé la notation suivante pour répertorier les abcès :

- 0 : aucun abcès,
- 1 (et nombre) : petits abcès, soit de la taille d'une tête d'épingle à celle d'une noisette, en précisant le nombre,
- 2 (et nombre) : gros abcès, soit d'une taille supérieure à celle d'une noisette, en précisant le nombre.

Si les abcès étaient indénombrables, nous avons noté « plusieurs ».

Kystes lactés

Les kystes lactés sont définis comme des indurations focales, circulaires, pouvant être présentes sous forme de chapelets, en général localisées au pôle crânio-inférieur de la mamelle à proximité des citernes (zones déclives), et plus rarement en zone caudo-supérieure (sous-cutanées). Ils peuvent être de la taille d'une noisette à celle d'une orange, en nombre variable. Leur consistance est d'abord liquidienne, mais peut augmenter en évoluant.

Nous notons :

- 0 : aucun kyste,
- 1 (et nombre) : petits kystes, soit noisette à cerise, en précisant le nombre,
- 2 (et nombre) : gros kystes, soit plus gros qu'une cerise, en précisant le nombre.

Si les kystes sont indénombrables, nous notons « plusieurs ».

○ « *Autres* »

Affections des trayons

Nous avons relevé les anomalies pouvant être présentes sur les trayons : dermatite (papule, pustule, croûte...), Ecthyma, papillomatose, anneau de compression, congestion, hyperkératose apicale, trauma, morsure...

Nous notons alors :

- 0 : trayon normal,
- 1 (anomalie) : présence d'une anomalie, en précisant le type d'anomalie.

Rougeur de la mamelle

Une rougeur ou une coloration anormale de la mamelle ont également été notées. Une mamelle peut être rosée, rouge, présenter des signes de nécrose ou d'impétigo...

Nous notons :

- 0 : mamelle de couleur normale
- 1(anomalie) : présence d'une anomalie, en précisant le type d'anomalie.

Aspect du lait

Nous avons précisé l'aspect du lait en cas de modification de la sécrétion lactée. Nous avons relevé les couleurs et les consistances anormales, la présence de grumeaux... Une codification a été appliquée afin de définir la modification lactée :

- 0 : aucune modification du lait,
- 1 : sécrétion lactée modifiée de façon physiologique (sécrétion de tarissement ou colostrum),
- 2 : sécrétion lactée modifiée de façon physiologique ou pathologique (hémolactation chez les primipares,...),
- 3 : sécrétion lactée modifiée de façon pathologique, en faveur d'une mammite (grumeaux, pus,...).

2. Données cellulaires et laitières

a. Données du contrôle laitier

L'élevage de la Cazotte est inscrit au contrôle laitier officiel ; celui-ci comprend 6 comptages cellulaires au cours de la campagne. Le contrôle est réalisé à la traite du matin. Après les pesées de lait, lorsque les éprouvettes sont pleines, un prélèvement de lait représentatif de l'ensemble de la traite est effectué sur toutes les brebis en lactation. Les données issues des contrôles sont les suivantes :

- données relatives à l'animal : n° officiel, n° de travail, n° cheptel, date d'agnelage, rang de lactation, taille de portée, nombre de mâles nés vivants, nombre de femelles

nées vivantes, nombre agneaux morts-nés, mode de reproduction, index lait, index cellules, index production,

- données relatives à la quantité de lait (par mamelle) : production laitière par traite, production laitière journalière estimée, production laitière estimée sur la campagne, durée de lactation estimée,
- données relatives à la qualité du lait (par mamelle) : taux protéique, taux butyreux, comptage cellulaire, urée.

Deux comptages cellulaires individuels ont été ajoutés aux 6 comptages cellulaires du contrôle laitier officiel lors de la campagne N, le 14 mai 2014 et 12 juin 2014.

Certaines données énumérées ci-dessus ont été estimée (production laitière journalière estimée, production laitière estimée sur la campagne, index lait, index cellules et index production). Le détail de ces estimations est expliqué dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Paramètres estimés (contrôle laitier officiel).

Paramètres estimés	Explications
Production laitière journalière estimée	Production laitière par traite x coefficient (variable selon le stade de lactation)
Production laitière estimée sur la campagne	Aire sous la courbe entre le 25 ^{ème} jour <i>post partum</i> et le 15 ^{ème} jour après le dernier contrôle laitier officiel (le 11 avril 2014)
Index lait	Evaluation génétique française après contrôle sur descendance, exprimé en décilitre
Index cellules	Ecart-type génétique d'une variable d'indexation annuelle correspondant à la moyenne des scores cellulaires pondérés par le stade de lactation
Index production	Index combinant le lait (en décilitre) et les taux protéique et butyreux (en g/L) comme suit : $1,2 \times (\text{lait} + 26 \text{ TB} + 56 \text{ TP})$

b. Données des essais nutritionnels

En plus de ces comptages, une partie de l'effectif des brebis a été prélevée dans le cadre des essais nutritionnels. Lors de la campagne laitière N, une centaine de brebis de notre

étude ont ainsi bénéficié de comptages supplémentaires, et cent-soixante brebis en ont bénéficié lors de la campagne laitière N+1. Compte tenu de ces effectifs nettement inférieurs aux nôtres, nous n'avons pu intégrer ces comptages de façon systématique dans notre étude.

Le Tableau 3 et le Tableau 4 reprennent les dates où les brebis ont été prélevées, au cours des deux campagnes laitières.

Tableau 3 : Dates des prélèvements de lait pour les comptages cellulaires individuels lors de la campagne N.

Dates des prélèvements	Rang de lactation moyen (jours) (1)	Cadre des prélèvements	Nombre brebis prélevées
22/11/2013	38	CLO	130
06/12/2013	52	Essais nutrition	132
20/12/2013	66	Essais nutrition	114
20/12/2013	66	CLO	247
06/01/2014	83	Essais nutrition	108
17/01/2014	94	Essais nutrition	107
17/01/2014	94	CLO	249
31/01/2014	108	Essais nutrition	108
14/02/2014	122	CLO	251
28/02/2014	136	Essais nutrition	108
14/03/2014	150	Essais nutrition	108
14/03/2014	150	CLO	267
11/04/2014	178	CLO	268
14/05/2014	211	CL additionnel	266
12/06/2014	240	CL additionnel	265

(1) Rang de lactation d'une brebis « type » ayant agnelé au moment du pic d'agnelage.

Tableau 4 : Dates des prélèvements de lait pour le comptage cellulaire lors de la campagne N+1.

Dates des prélèvements	Rang de lactation moyen (jours) ⁽¹⁾	Cadre des prélèvements	Nombre brebis prélevées
22/11/2014	41	CLO	259
09/12/2014	58	Essais nutrition	259
19/12/2014	68	CLO	245
05/01/2015	85	Essais nutrition	160
16/01/2015	96	CLO	245
30/01/2015	110	Essais nutrition	160
13/02/2015	124	CLO	243
27/02/2015	138	Essais nutrition	160
13/03/2015	152	CLO	240
26/06/2015	257	CLO	183

(1) Rang de lactation d'une brebis « type » ayant agnelé au moment du pic d'agnelage.

c. Données cellulaires supplémentaires

En plus des données précédentes (par mamelle), nous avons réalisé, dans le cadre de notre essai, des prélèvements de lait supplémentaires pour avoir des valeurs par hémimamelle.

○ Campagne laitière N

Deux prélèvements supplémentaires ont été réalisés à la fin de la campagne laitière N. Le premier a été réalisé en fin de lactation, le 27/05/2014 (J_{FL}) ; le second a été réalisé le jour du tarissement, juste avant l'administration du traitement antibiotique intra-mammaire, le 15/07/2015 (J_T). Ces deux prélèvements ont été réalisés en salle de traite, juste avant la traite du matin. A chacune de ces dates, l'ensemble du troupeau a été prélevé.

○ Campagne laitière N+1

Trois prélèvements supplémentaires ont été réalisés au début de la campagne laitière N+1. Les deux premiers ont été faits en bergerie, lors de la distribution du concentré de

production, en fin de matinée. Le dernier a été réalisé en salle de traite, avant la traite du matin.

L'objectif du premier prélèvement, à J₄ (4 jours après la mise bas), était l'évaluation du statut infectieux des mamelles avant le début de la « repasse », c'est-à-dire avant la première traite mécanique (au cours de l'allaitement). La repasse a lieu généralement 4 à 5 jours après l'agnelage (vidange des mamelles). Dans les faits, toutes les brebis n'ont pas pu être prélevées au quatrième jour *post partum* et certains prélèvements ont été décalés, comme le montre la Figure 9.

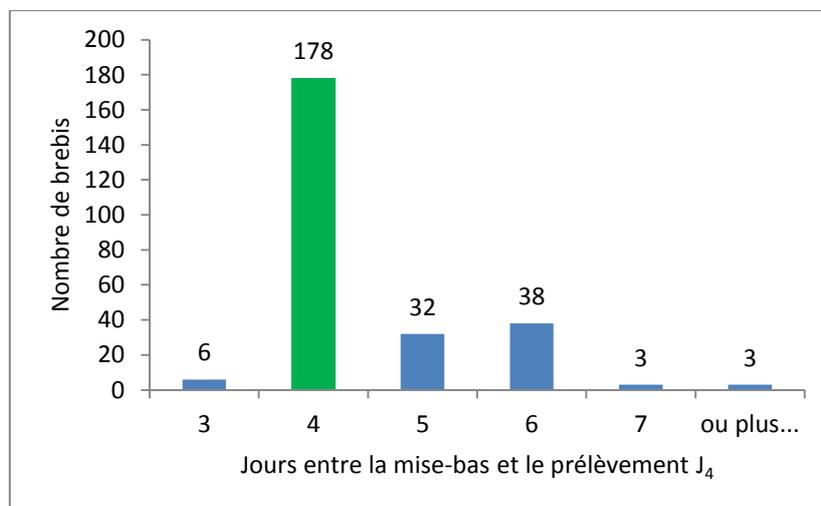


Figure 9 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre la mise bas et le prélèvement à J₄ (n=260).

A cause de ces prélèvements décalés, 82 brebis, soit 30,6% de l'effectif, ont été prélevées après le début de la repasse (Figure 10).

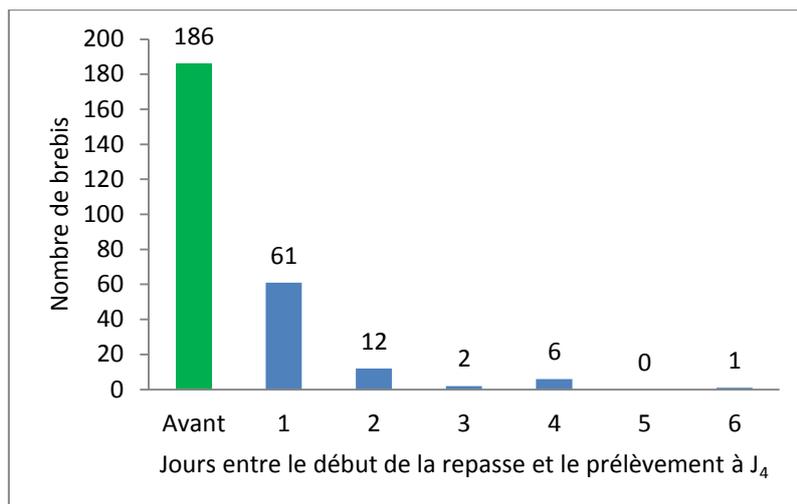


Figure 10 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre le prélèvement à J₄ et la repasse (n=268).

Le deuxième prélèvement devait être réalisé 10 jours *post partum* (J₁₀). Deux cent trente-cinq brebis sur les 268 ont été prélevées, la majorité entre le dixième et le douzième jour *post partum*, soit 81,3% de l'effectif (Figure 11).

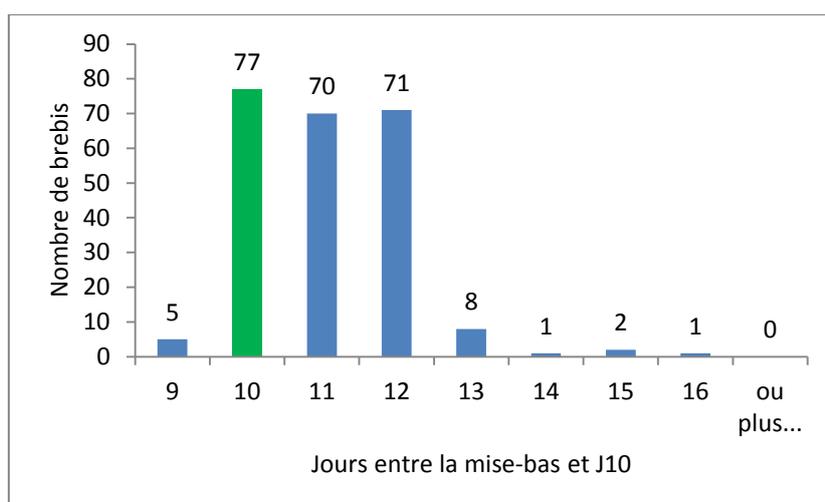


Figure 11 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre la mise bas et le prélèvement à J₁₀ (n=235).

Le dernier prélèvement devait être réalisé 40 jours après la mise-bas (J₄₀), soit une dizaine de jours après le sevrage des agneaux. Deux cent quarante-huit brebis ont été prélevées comme indiqué sur la Figure 12.

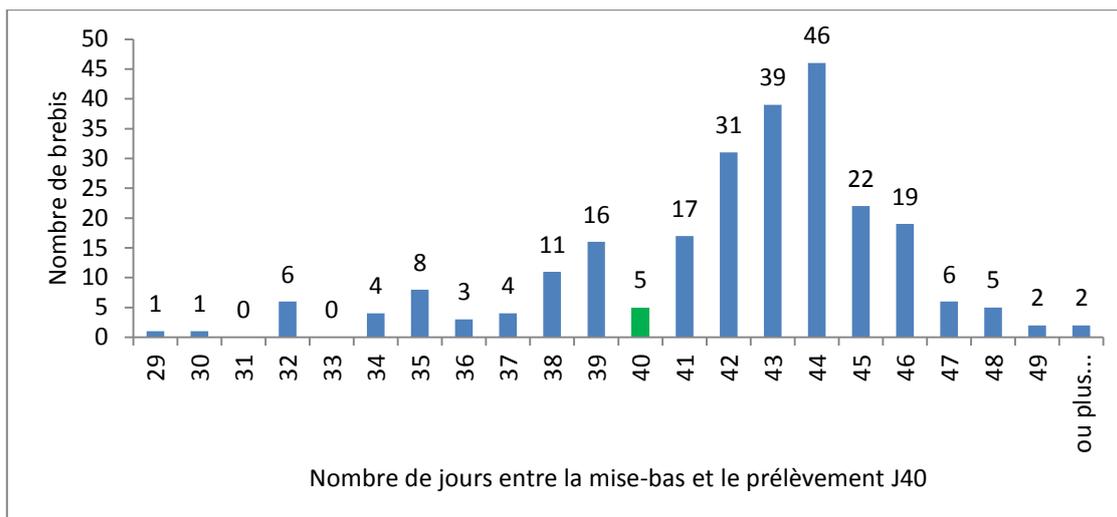


Figure 12 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre la mise bas et le prélèvement à J₄₀ (n=248).

d. Prélèvements de lait pour les comptages cellulaires

Les prélèvements pour le comptage cellulaire sont effectués avant la traite du matin, sur la première fraction, c'est-à-dire sur les premiers jets. Ces premiers jets sont prélevés dans des flacons capsulés d'une contenance de 25 mL avec un conservateur, le Bronopol® (2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol). Les flacons sont remplis au maximum, avec le moins de mousse possible. Ils sont identifiés par un numéro d'ordre, chaque numéro d'ordre correspondant à une brebis et à un côté. Les flacons remplis sont groupés dans des casiers et conservés au froid (+4°C), au maximum pendant 4h, avant d'être envoyés au LIAL Massif Central (Aurillac, 15) pour être analysés dans les 24h (y compris le week-end).

e. Technique analytique pour les comptages cellulaires

Le dénombrement des cellules du lait a été réalisé par la méthode fluoro-opto-électronique. Le lait est mélangé avec une solution fluorescente, le bromure d'éthidium, qui se fixe à l'ADN cellulaire. L'émission de fluorescence induite est ainsi proportionnelle au nombre de cellules nucléées de l'échantillon. Pour se faire, une partie du mélange est transférée, sous la forme d'un mince film, dans un disque rotatif faisant fonction de porte-

objet. Chaque cellule du lait produit une impulsion électrique qui est amplifiée et enregistrée. Le comptage cellulaire est exprimé en milliers de cellules par millilitre.

3. Données bactériologiques

a. Calendrier des interventions

Des prélèvements bactériologiques ont également été réalisés en parallèle des prélèvements pour le comptage cellulaire.

- *Campagne laitière N*

Lors de la campagne laitière N, des prélèvements bactériologiques ont été réalisés le même jour que les prélèvements cytologiques, à J_{FL} et J_T , pour détecter et identifier les germes présents avant la mise en place du traitement antibiotique intra-mammaire.

- *Campagne laitière N+1*

Un premier prélèvement a été réalisé en bergerie, dans les heures suivant la mise bas (idéalement à J_0). L'objectif de ce premier prélèvement était de détecter les germes présents à la fin de la période sèche avant l'introduction éventuelle de nouveaux germes, en particulier lors des tétées. Sur les 268 brebis ayant mis bas, 259 ont pu être prélevées. Parmi celles-ci, 74% ont été prélevées avant la première tétée. La Figure 13 présente les intervalles entre la mise bas et le prélèvement pour la bactériologie.

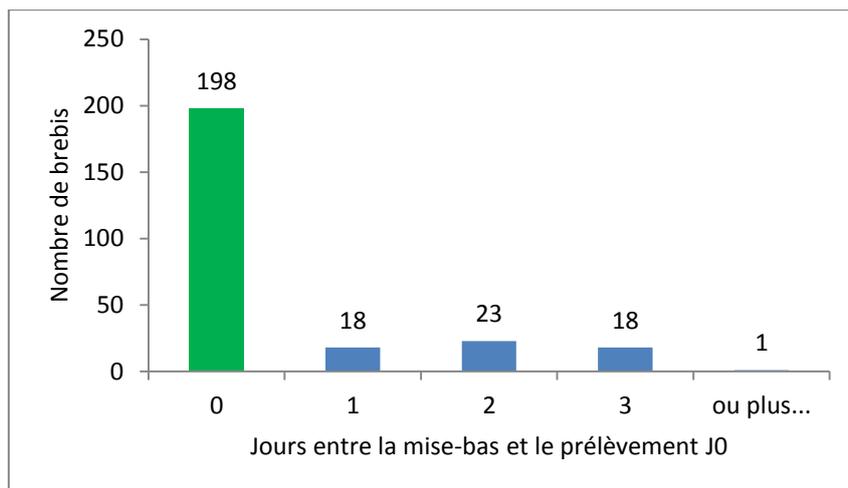


Figure 13 : Répartition des brebis en fonction du nombre de jours entre la mise bas et le prélèvement J₀ pour PCR (n=259).

Un autre prélèvement a été réalisé en bergerie à J₄, juste après le prélèvement pour le comptage cellulaire réalisé à cette date. La répartition des dates effectives de prélèvements a été présentée à la Figure 9 et à la Figure 10.

b. Prélèvements pour la bactériologie

Les prélèvements aseptiques de lait pour les analyses bactériologiques sont effectués entre l'extraction des premiers jets (pour comptages cellulaires) et la traite complète. Un opérateur aux mains nettoyées et désinfectées met en œuvre l'antisepsie de l'apex du trayon avec une compresse imprégnée d'alcool à 85°C. Il fait ensuite jaillir un jet de lait dans un tube stérile ouvert au dernier moment par un deuxième opérateur, aux mains également désinfectées. Le tube est immédiatement refermé puis identifié (numéro de la brebis, côté G ou D, date). Les tubes ont ensuite été congelés à -70°C avant d'être analysés par PCR.

c. Stratégie diagnostique

Les échantillons de lait ainsi recueillis ont ensuite été analysés par PCR en temps réel. Dans un premier temps, nous avons recherché la présence de *Staphylococcus spp.*, genre bactérien regroupant les agents étiologiques majoritairement responsables des mammites sub-cliniques chez les ovins.

Dans un deuxième temps, nous poursuivrons cette recherche d'agents infectieux suivant le résultat de la PCR *Staphylococcus spp.*. Dans le cas d'un résultat négatif, la présence d'autres germes responsables de mammites sub-cliniques sera recherchée (Figure 14). Dans le cas d'au moins un résultat positif avant et après tarissement pour *Staphylococcus spp.*, des séquençages seront réalisés afin d'identifier et de comparer les espèces présentes (Figure 15). La suite des réactions d'amplification et de séquençage ne fait pas partie de la présente thèse, mais fera l'objet de futurs travaux.

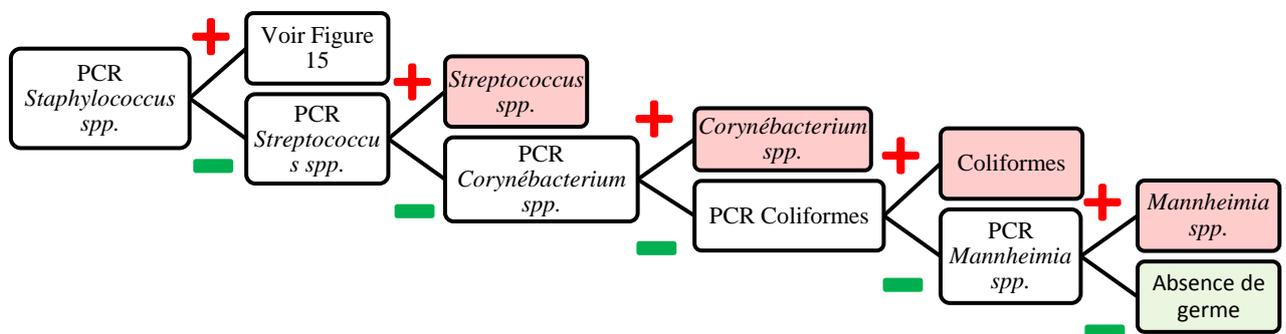


Figure 14: Stratégie diagnostique en cas de résultat négatif en PCR *Staphylococcus spp.*

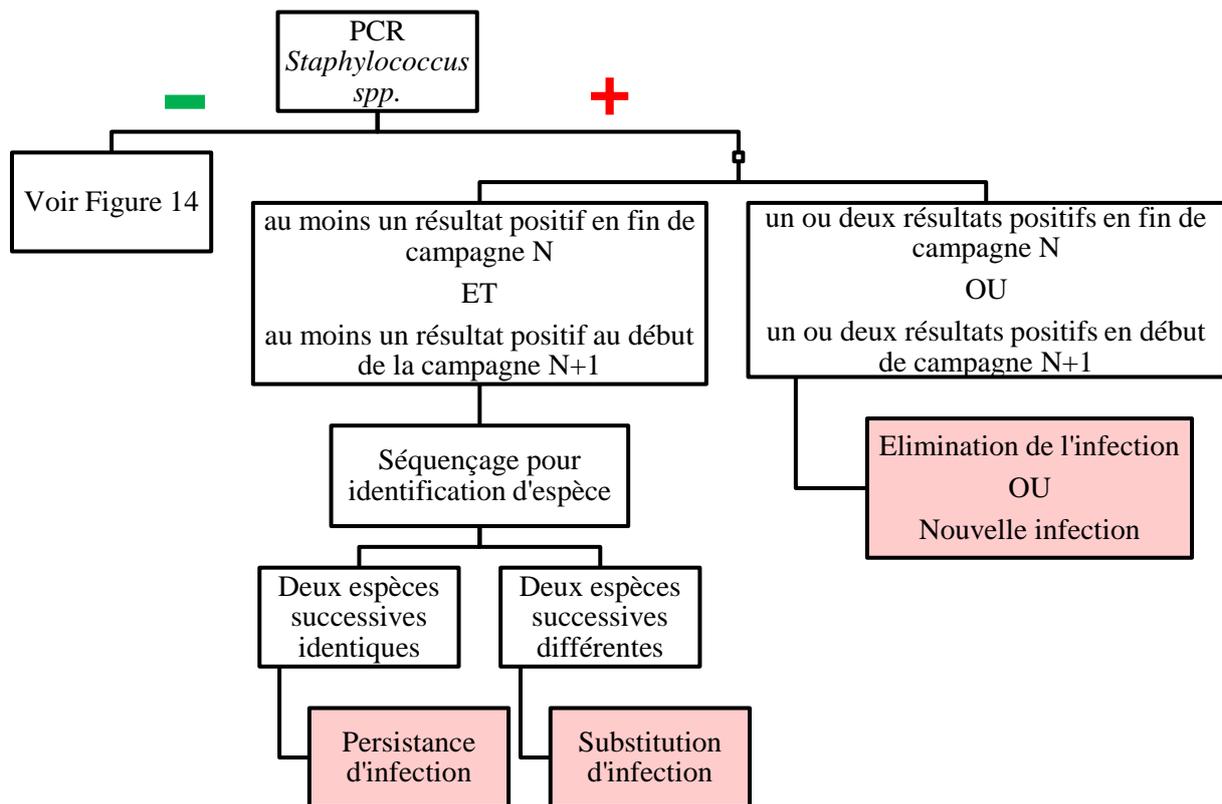


Figure 15 : Stratégie diagnostique en cas de résultat positif en PCR *Staphylococcus spp.* pour au moins une des 4 dates.

d. Recherche de *Staphylococcus spp.* par PCR en temps réel

○ *Extraction*

Les échantillons de lait ont d'abord été traités afin d'extraire l'ADN présent. Cette étape préparatoire à la PCR a été réalisée à l'aide du kit NucleoMag 96 tissue (Genomic DNA from Tissue kit, Macherey-Nagel). Ce kit utilise la séparation magnétique pour extraire l'ADN, une méthode basée sur sa liaison réversible à des billes magnétiques. Après liaison de l'ADN, les billes ont été séparées des autres composants cellulaires contaminants, lavées et finalement le mélange purifié a été élué par extraction à l'éthanol. Le kit a été utilisé de façon automatisée dans les laboratoires de l'UMR INRA-ENVIT 1225 grâce à l'automate KINGFISHER FLEX 96.

○ *Amplification*

Les amorces utilisées ciblent une région conservée de L'ARNr 16S. La sonde StaphProbe cible un site interne et spécifique au genre *Staphylococcus* ; elle est couplée au fluorophore FAM. Une PCR quantitative (détection en temps réel de la fluorescence par chimie Taqman) a permis d'amplifier l'ADN extrait. L'amplification a été réalisée sur la plateforme Get-TRIX de l'INRA (UMR Toxalim, Saint-Martin-du-Touch) à l'aide du robot VIIA7 et du matériel suivant (YANG S, 2002):

- amorces : elles ciblent une séquence de l'ARNr 16S du genre *Staphylococcus* (StaphF et StaphR à 100µM) (Eurogentec),
- sonde : la sonde spécifique de ce genre, Staphprobe est couplée à une couleur de fluorescence, FAM (StaphProbe_6_FAM_BHQ-1) (Eurogentec),
- kit QuantifastPathogen PCR + Internal control (400) (Qiagen).

Les amplifications ont été réalisées en plaques de 384 puits (chaque puits correspondant à un échantillon). La répartition des prélèvements par dates (J_{FL}, J_T, J₀ et J₄) dans ces plaques est présentée à la Figure 16.

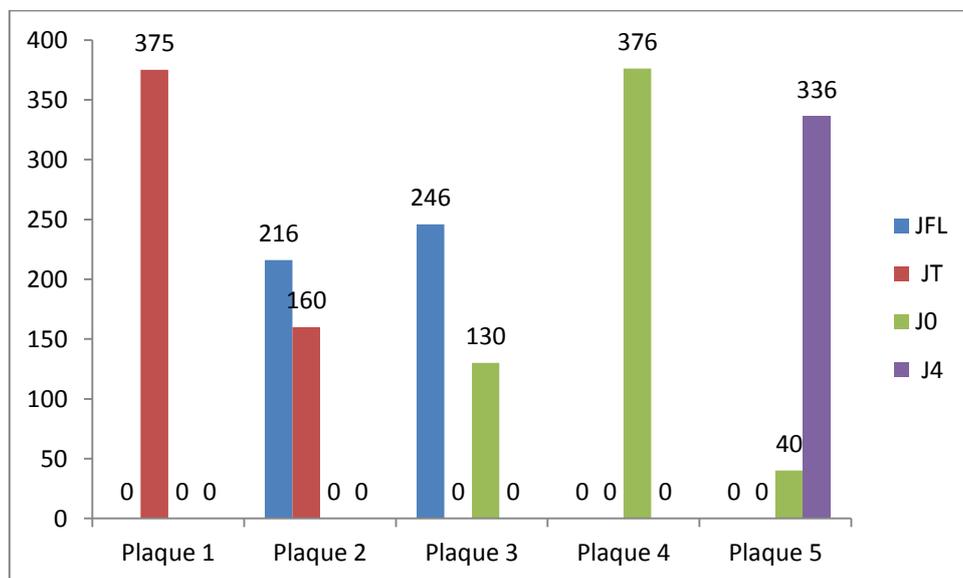


Figure 16 : Répartition des échantillons par date de prélèvements selon les plaques d'amplification.

○ *Contrôle interne*

Un contrôle interne à haute concentration a été associé à chaque échantillon pour contrôler les différentes étapes (internal control DNA, High con, Qiagen).

○ *Utilisation d'une gamme étalon*

Les résultats obtenus sont donnés en Cycles Threshold (CT), c'est-à-dire en nombre de cycles nécessaires pour que le signal obtenu soit supérieur au bruit de fond. Afin d'obtenir une quantification en nombre de bactéries par volume réactionnel de PCR, plus exactement en « équivalent gène » (le nombre de copies de la cible étant variable entre certaines espèces), une gamme de dilution avec une quantité précisément connue d'ADN de *S. aureus* (quantification en Nanodrop®) a été utilisée. Pour chaque plaque, 8 puits ont été affectés à cette gamme de dilution. Deux puits contiennent 10^2 copies d'ADN, deux puits en contiennent 10^3 , deux puits en contiennent 10^4 et les deux derniers en contiennent 10^6 .

e. Validation de la PCR *Staphylococcus spp.*

Une partie des échantillons a été amplifiée une deuxième fois selon la méthode décrite ci-dessus (plaque 6). Les échantillons choisis pour cette amplification additionnelle correspondent :

- soit à des échantillons dont le contrôle interne n'a pas été amplifié lors de la première PCR (présence probable d'inhibiteurs de l'amplification). A partir de l'ADN extrait, une dilution au cinquième a été réalisée, puis la nouvelle amplification a été réalisée.
- soit à des échantillons choisis pour l'évaluation de la répétabilité des résultats. Nous avons sélectionné des échantillons ayant donné des résultats négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs lors de la première amplification. A partir de l'ADN extrait, nous avons réalisé une nouvelle amplification pour comparer les résultats obtenus entre les deux amplifications.

IV. Antibiothérapie intra-mammaire au tarissement

Dans cet essai d'antibiothérapie sélective, le critère unique de sélection des hémimamelles à traiter a été l'infection de celles-ci (priorité donnée à la mise en œuvre d'une action curative). Les résultats de PCR n'étant pas disponibles au moment du traitement, nous avons identifié les hémimamelles présumées « infectées » sur la foi des comptages cellulaires et, secondairement, des examens cliniques de fin de lactation. Ces statuts présumés ont été validés *a posteriori* à l'aide de l'ensemble des données cellulaires, cliniques et bactériologiques.

1. Identification des hémimamelles présumées « infectées » (campagne N)

Au début de l'expérience, notre population comprenait 311 brebis. Avant de mettre en œuvre le traitement au tarissement, nous les avons réparties en trois lots homogènes et randomisés. Pour cela, nous avons tout d'abord différencié les hémimamelles présumées « saines » des hémimamelles présumées « infectées ». Une brebis a été considérée comme présumée « infectée » si au moins une de ses valeurs de comptage cellulaire individuel dépassait, au cours de la campagne laitière, un seuil dépendant du stade de lactation. Les seuils définis pour la campagne N sont présentés à la Figure 17. L'objectif poursuivi a été de privilégier la sensibilité de cette détection par les comptages cellulaires (au détriment de la spécificité), de façon à réduire au maximum le nombre d'hémimamelles réellement infectées mais non traitées.

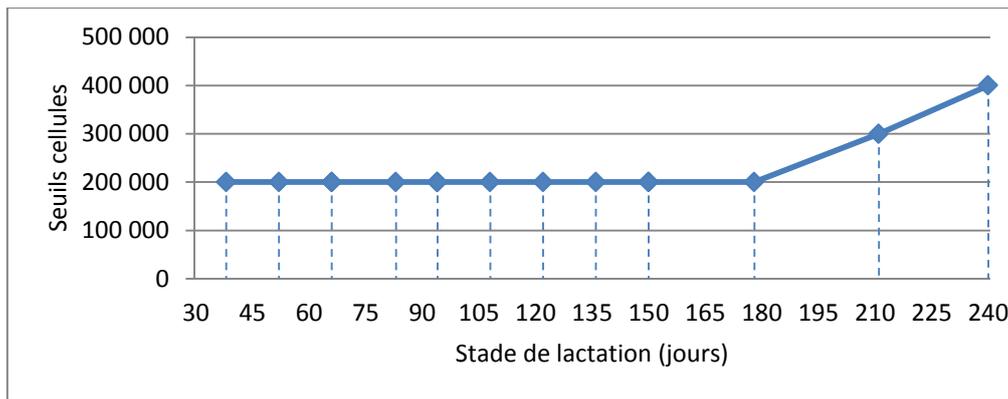


Figure 17: Variation en fonction du stade de lactation des seuils établis pour prédire le statut infectieux d'une mamelle sur la foi des comptages cellulaires (campagne N).

Une même brebis peut développer plusieurs infections mammaires successives lors d'une même campagne laitière. Nous avons considéré qu'une brebis présentait successivement deux « infections » présumées lorsqu'elle montrait deux séries de valeurs supérieures au(x) seuil(s), espacées de plus de deux mois, avec des valeurs intermédiaires strictement inférieures au(x) seuil(s).

De plus, les enregistrements cliniques mammaires ont été intégrés afin de réduire au minimum les cas de mamelles à comptages cellulaires inférieurs aux seuils, présentant des signes chroniques de mammites et non traitées.

2. Constitution des lots par stratification et randomisation

Nous avons ensuite constitué nos trois lots homogènes en nous fondant tout d'abord sur : les données cellulaires (comptages cellulaires par brebis et par hémis-mamelles à J_{FL}), ensuite sur les données cliniques (J_{FL}), et enfin sur les données relatives à l'animal (rang et durée de lactation, index).

Ainsi, pour les brebis présumées « saines », nous avons pris en compte successivement :

- les déséquilibres des mamelles (en distinguant d'une part les mamelles déséquilibrées des mamelles équilibrées, et d'autre part la latéralité du déséquilibre),
- l'adénomégalie supra-mammaire et sa latéralité,

- la présence d'abcès ou d'induration,
- l'index cellules,
- la durée de lactation,
- le rang de lactation
- la production laitière sur la campagne N.

Pour les brebis présumées « infectées », nous avons pris en compte successivement :

- le nombre présumé d' « infections » au cours de la campagne laitière N,
- l'ancienneté de l' « infection », c'est-à-dire la première date pour laquelle les comptages cellulaires individuels dépassent le seuil fixé,
- la durée de l' « infection »,
- la date de fin de l' « infection »,
- l'intensité de l' « infection » en distinguant le nombre de valeurs de comptages cellulaires individuels dépassant 800 000 et un million de cellules par mL,
- la latéralité de l' « infection » (quand un doute persistait sur le côté présumé « infecté », la brebis était placée dans les lots A ou B pour lesquels le traitement était appliqué à l'échelle de la mamelle et non de l'hémi-mamelle),
- les « déséquilibres » des mamelles (en distinguant d'une part les mamelles déséquilibrées des mamelles équilibrées, et d'autre part la latéralité du déséquilibre),
- l'adénomégalie supra-mammaire et sa latéralité,
- la présence d'abcès ou d'induration,
- l'index cellules,
- la durée de lactation,
- le rang de lactation
- la production laitière (campagne N).

Nous avons ainsi obtenu de nombreuses strates parmi lesquelles nous avons tiré au sort afin de répartir les brebis en trois lots. En appliquant ces critères de stratification puis ce tirage au sort, nous avons obtenu des lots homogènes et similaires (voir RESULTATS. I. Validation de l'allotement et caractérisation des lots). Cependant, sur les 311 brebis initiales, seules 268 ont été conservées dans notre étude lors de la lactation suivante. Avant d'analyser

les résultats, il a donc fallu vérifier *a posteriori* l'homogénéité des lots finaux, une fois retirées les brebis manquantes à la mise bas.

3. Stratégie de traitement de chaque lots et sélection des héli-mamelles à traiter

Chacun des lots comprenait initialement le tiers du troupeau de 311 femelles, soit 103 ou 104 brebis.

a. Lot A

Il s'agit du traitement exhaustif ou systématique : les deux héli-mamelles de toutes les brebis ont été traitées.

b. Lot B

Le lot B correspond au traitement sélectif des mamelles dont une glande au moins est présumée « infectée ».

Ce traitement sélectif a été mis en place sur toutes les brebis présumées « infectées » à l'exception des suivantes:

- brebis avec une élévation de comptages cellulaires commençant au moment de la mise à l'herbe et de faible intensité, c'est-à-dire ne dépassant pas 800 000 cellules par mL (suspicion de variations physiologiques liées à la mise à l'herbe ou, plus tard, à la fin de lactation),
- brebis avec une « infection » présumée résolue avant mars (donc résolue avant le tarissement).

Avec ces critères, 39 des 104 brebis ont été traitées (sur les 57 présumées « infectées » au total). Les deux héli-mamelles ont été traitées pour chacune d'entre elles.

c. Lot C

Le lot C correspond au traitement sélectif des seules héli-mamelles présumées « infectées » (absence de traitement des glandes contro-latérales).

Les brebis à traiter ont été choisies selon les mêmes critères que pour le lot B. Nous avons obtenu 38 brebis à traiter sur les 57 présumées « infectées ». Pour chacune de ces brebis, nous avons déterminé le ou les côtés à traiter à l'aide des examens cliniques et des comptages cellulaires par héli-mamelle :

- côté dont les valeurs de comptage cellulaire dépassaient le seuil à J_{FL} , alors que l'autre côté présentait des valeurs inférieures au seuil,
- côté dont les valeurs de comptage cellulaire dépassaient le seuil à J_{FL} avec une symptomatologie clinique en faveur d'une infection chronique (présence d'abcès, d'une induration ou d'une asymétrie mammaires).

Finalement, 9 brebis ont été traitées bilatéralement, 12 ont été traitées uniquement à gauche et 17 uniquement à droite.

4. Date, nature et modalité du traitement intra-mammaire

Le traitement intra-mammaire a été mis en place lors de notre visite du 15 juillet 2014, jour de la dernière traite, par deux équipes de deux personnes. Une période d'espacement des traites de 20 jours (tarissement progressif) avait eu lieu au préalable. Vingt-cinq brebis s'étaient tariées précocement une quinzaine de jours auparavant ; les canaux des trayons n'étant pas obturés, elles ont été traitées avec le reste du troupeau.

Le traitement a consisté en une injection intra-mammaire de Nafpenzal[®]-T (MSD). La composition d'une seringue est la suivante : benzylpénicilline (170 mg), nafcilline (100 mg) et dihydrostreptomycine (100 mg). Les excipients sont le stéarate d'aluminium et la paraffine liquide.

Une seringue entière par héli-mamelle a été administrée juste après la dernière vidange de la mamelle (traite mécanique). Une désinfection du trayon a d'abord été réalisée à

l'aide des lingettes fournies avec les seringues. Le contenu d'une seringue a ensuite été injecté avec précautions et un massage de l'hémi-mamelle a été effectué. Enfin, une pulvérisation d'un produit iodée pour trayons a été réalisée. Les brebis ont ensuite été tenues à l'intérieur de la bergerie (pas d'apport fourrager en vert) pendant approximativement une semaine.

La machine à traire avait été nettoyé et désinfectée avant à l'aide d'un produit alcalin-chloré.

V. Antiseptie des trayons en périodes de *peripartum*

1. Sélection des hémi-mamelles à traiter

Pour chaque brebis, nous avons choisi aléatoirement un côté, droit ou gauche, pour recevoir l'antiseptie. L'autre hémi-mamelle a été laissée sans antiseptie, chaque brebis constituant ainsi son propre témoin. Nous avons utilisé la même méthode que pour le traitement antibiotique (stratification puis randomisation) afin de s'assurer que le groupe d'hémi-mamelles recevant l'antiseptie était similaire au groupe sans antiseptie. Nous nous sommes également assurées qu'il y ait autant d'hémi-mamelles traitées à droite qu'à gauche.

2. Nature et modalités de l'antiseptie

L'antiseptie s'est fondée sur l'application de deux produits utilisés respectivement avant et après les mises bas.

a. **Trempage des trayons avec une solution iodée avant la mise bas**

o *Composition*

Avant la mise bas, une solution iodée a été utilisée : le Io-Shield[®]. Ce produit est formé d'un mélange de :

- complexe éthoxylate d'iode de nonylphénol (1 à 5%) : action antiseptique,

- polyvinyl pyrrolidone (0,5%) : agent stabilisant,
- acide dodécylbenzène sulfonique (0,1 à 1%) : acidifiant,
- glycérine (1 à 5%) : formation d'un film protecteur sur le trayon.

La durée d'action du produit indiquée par le fabricant est de 12 à 24h (produit à effet dit « barrière »).

○ *Modalités d'application*

La solution iodée a été utilisée dans les jours précédents la mise-bas. L'objectif était d'appliquer ce traitement au moins trois fois avant la mise bas, à raison d'une fois par jour. Les applications ont systématiquement été réalisées le matin, lorsque les brebis étaient au cornadis (alimentation). Pour chaque brebis, le côté à traiter était indiqué par un marquage de couleur. Un trempage était alors réalisé du côté indiqué grâce à un gobelet anti-retour. Le produit, une fois appliqué, couvrait tout le trayon.

Comme toutes les mises-bas n'étaient pas groupées (retours), certaines brebis ont reçu plus d'applications que d'autres. De plus, en raison de mises bas précoces non anticipées, une partie des brebis n'a reçu aucune application de Io-Shield® (

Figure 18). Pour chaque brebis, nous avons arrêté les applications dès l'agnelage, afin éviter les interférences avec la tétée des agneaux.

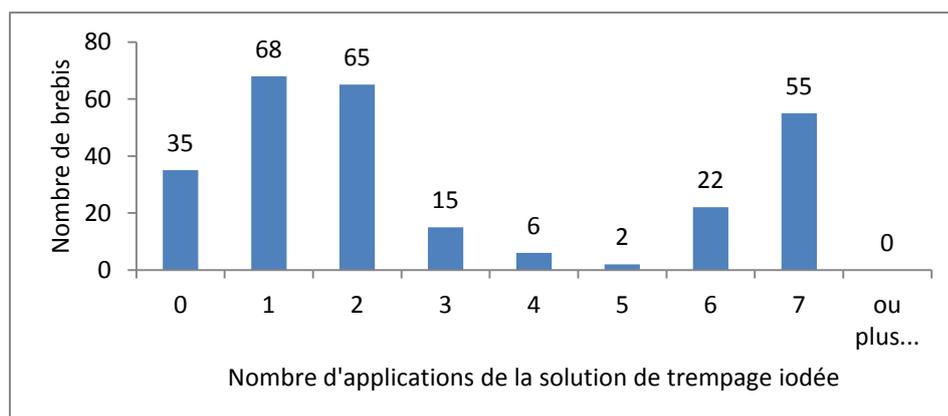


Figure 18 : Répartition des brebis en fonction du nombre d'applications de la solution de trempage iodée avant la mise bas.

b. Pulvérisation des trayons avec une association chlorhexidine-ammoniums quaternaires après la mise bas

○ *Composition*

Le produit utilisé, la Festadine[®] comprenait deux constituants :

- chlorhexidine,
- ammoniums quaternaires.

○ *Modalités d'application*

Les pulvérisations de Festadine[®] ont été réalisées à partir du premier jour de traite (« repasse »), environ 4 jours après l'agnelage. Elles ont ensuite été réalisées tous les jours, après la traite du matin, par le personnel de la Cazotte, pendant une vingtaine de jours.

En raison des retours en chaleur, la durée du traitement n'a pas été la même pour toutes les brebis (Figure 19).

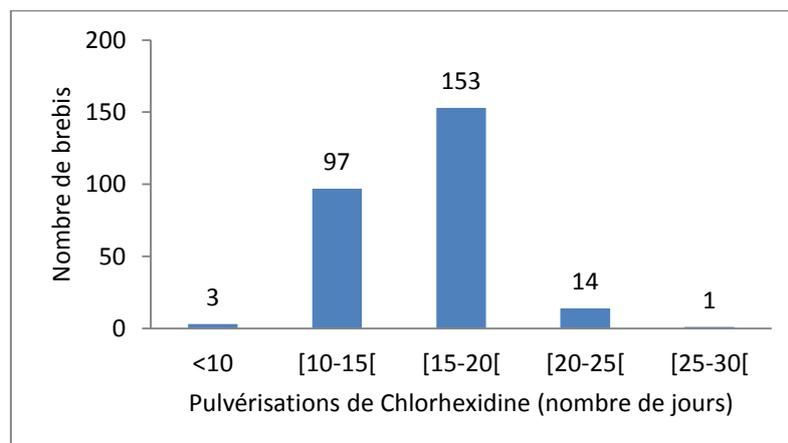


Figure 19 : Répartition des brebis en fonction de la durée de l'application quotidienne de chlorhexidine et ammoniums quaternaires.

La frise chronologique ci-dessous présente les modalités d'applications des deux produits antiseptiques (Figure 20).

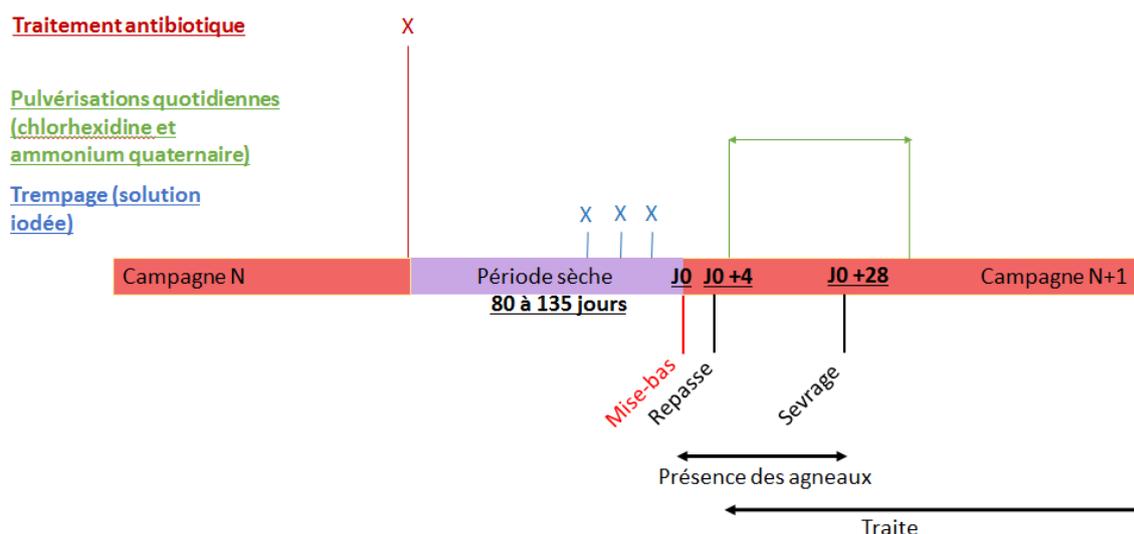


Figure 20 : Mise en place des traitements antiseptiques *pre et post partum*.

VI. Caractérisation du statut infectieux des animaux

Pour analyser les résultats obtenus, nous avons élaboré plusieurs « critères » définissant le statut infectieux à l'échelle de la mamelle ou de l'hémi-mamelle pour les deux campagnes. Les critères élémentaires se sont fondés soit sur les données cliniques, soit sur les données cellulaires, soit sur les données bactériologiques ; une combinaison de différents types de données a également été utilisée.

Une synthèse de ces critères est présentée au paragraphe 8 (page 145).

1. Critère 1

Le critère 1 se fonde exclusivement sur les enregistrements cliniques mammaires.

a. A la fin de la campagne N

Les examens cliniques mammaires ont été réalisés le 27 mai et le 15 juillet 2014 nous ont permis de rechercher pour chaque hémi-mamelle la présence de signes d'inflammation chronique (foyers d'induration ou abcès parenchymateux, pis asymétriques) ou aiguë (adénomégalie supra-mammaire). Ces examens nous ont permis de qualifier une hémi-

mamelle de cliniquement « positive », « douteuse » ou « négative » en appliquant les conditions suivantes :

- Pis asymétriques (« déséquilibres » de la mamelle) :
 - déséquilibre ≥ 3 : hémi-mamelle très déséquilibrée,
 - $1 < \text{déséquilibre} < 3$: hémi-mamelle déséquilibrée,
 - déséquilibre ≤ 1 : hémi-mamelle non significativement déséquilibrée.

- Nœuds lymphatiques supra-mammaires :
 - nœud lymphatique ≥ 5 : nœud lymphatique très réactionnel,
 - $3 \leq \text{nœud lymphatique} < 5$: nœud lymphatique réactionnel,
 - nœud lymphatique < 3 : nœud lymphatique peu réactionnel.

- Induration :
 - induration > 2 : hémi-mamelle très indurée,
 - $1 \leq \text{induration} \leq 2$: hémi-mamelle indurée,
 - induration < 1 : hémi-mamelle peu ou pas indurée.

- Présence d'abcès :
 - abcès ≥ 1 : présence d'abcès,
 - abcès < 1 : absence d'abcès.

- Aspect du lait :
 - lait ≥ 3 : lait très modifié
 - $1 < \text{lait} < 3$: lait modifié,
 - lait ≤ 1 : lait d'aspect physiologique.

Ces conditions, considérées seules, n'ont pas toutes été directement utilisées pour déterminer le statut clinique d'une hémi-mamelle. La concordance de deux dépassements (valeurs comprises entre les seuils inférieur et supérieur ci-dessus), successifs (2 dates) ou concomitants (2 critères), ou encore l'existence d'un seul dépassement du seuil supérieur, ont permis de conclure qu'une hémi-mamelle était « positive » cliniquement ; la totalité des

enregistrements en dessous des seuils inférieurs pour une héli-mamelle a permis de la classer comme « négative » cliniquement ; les autres héli-mamelles ont été classées comme « douteuses ».

b. Au début de la campagne N+1

Lors de la campagne N+1, un seul examen clinique a été réalisé 4 jours *post partum*. De la même manière qu'au tarissement, des statuts cliniques « positif », « négatif » ou « douteux » ont été attribués aux héli-mamelles en se fondant sur les mêmes enregistrements cliniques ; les seuils en revanche diffèrent pour les « déséquilibres » et l'induration mammaire :

- Pis asymétriques (« déséquilibres » de la mamelle) :
 - déséquilibre ≥ 2 : héli-mamelle très déséquilibrée,
 - $1 < \text{déséquilibre} < 2$: héli-mamelle déséquilibrée,
 - déséquilibre ≤ 1 : héli-mamelle non significativement déséquilibrée.

- Nœuds lymphatiques supra-mammaires :
 - Nœud lymphatique ≥ 5 : nœud lymphatique très réactionnel,
 - $3 \leq \text{nœud lymphatique} < 5$: nœud lymphatique réactionnel,
 - Nœud lymphatique < 3 : nœud lymphatique peu réactionnel.

- Induration :
 - induration ≥ 3 : héli-mamelle très indurée,
 - $1 \leq \text{induration} < 2$: héli-mamelle indurée,
 - induration < 1 : héli-mamelle pas ou peu indurée.

- Présence d'abcès :
 - abcès ≥ 1 : présence d'abcès,
 - abcès < 1 : absence d'abcès.

- Aspect du lait :
 - o lait ≥ 3 : lait très modifié
 - o $1 < \text{lait} < 3$: lait modifié,
 - o lait ≤ 1 : lait d'aspect physiologique.

Le même principe que précédemment a été appliqué afin d'attribuer un statut clinique à chaque héli-mamelle (en ne se fondant ici que sur une date d'examen clinique mammaire). Deux valeurs concordantes concomitantes (2 critères) comprises entre le seuil inférieur et le seuil supérieur, ou une seule valeur dépassant le seuil supérieur a permis de classer les héli-mamelles parmi nos trois statuts : « positives », « douteuses », « négatives ».

2. Critère 2

Le critère 2 se fonde exclusivement sur les comptages cellulaires à l'échelon de la mamelle.

Nous avons déterminé le statut cellulaire de la mamelle en fin de lactation (respectivement en début de lactation) à partir des valeurs de comptage cellulaire des derniers contrôles laitiers de la campagne N (respectivement les premiers de la campagne N+1). Nous avons identifié un seuil inférieur et un seuil supérieur pour chacune des dates choisies.

a. A la fin de la campagne N

Pour caractériser une mamelle, nous avons utilisé les comptages cellulaires du 11 avril 2014, du 14 mai 2014 et du 12 juin 2014. Les seuils choisis pour chacune de ces dates varient au cours de la campagne : ils sont augmentés en fin de campagne pour tenir compte de l'effet concentration lié à la chute de la production laitière, comme illustré sur la Figure 21. Nous avons également tenu compte du rang de lactation des brebis (Tableau 5). L'intégration de ces facteurs de variation (nature, gamme de valeurs) fait suite aux travaux conduits dans le cadre du programme européen FAIR sur la variabilité des comptages cellulaires des ovins de race Lacaune (RUPP, 2002).

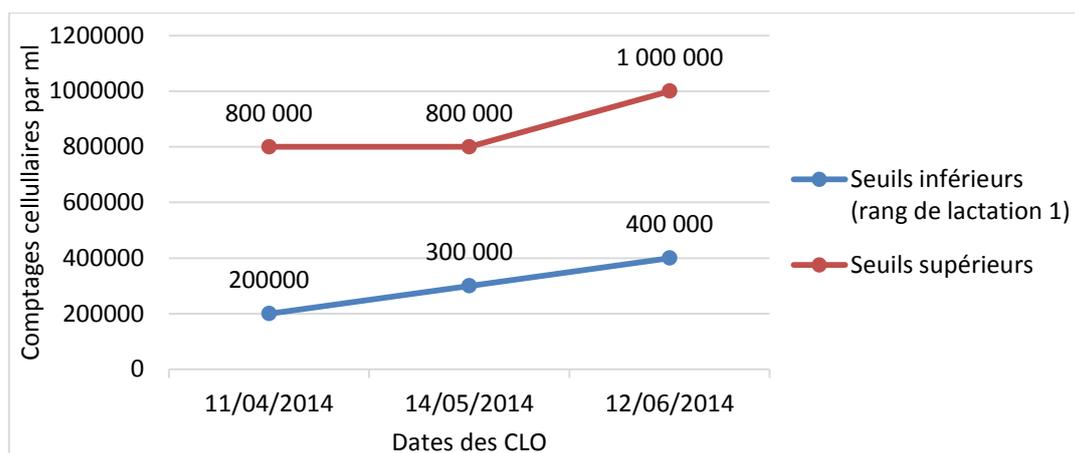


Figure 21 : Variation des seuils supérieurs et inférieurs selon la date du contrôle laitier (critère 2).

Tableau 5 : Variation des seuils inférieurs en fonction du rang de lactation (critère 2).

Dates	Rang 1	Rang 2	Rang 3	Rang 4	Rang \geq 5
11/04/2014	200000	230000	260000	290000	320000
14/05/2014	300 000	350 000	400 000	450 000	500 000
12/06/2014	400 000	465 000	530 000	595 000	660 000

Une mamelle est qualifiée de « positive » sur un plan cellulaire lorsque :

- deux valeurs ou plus dépassent le seuil supérieur établi,
- une seule valeur dépasse le seuil supérieur et les deux autres sont comprises entre le seuil inférieur et le seuil supérieur.

Une mamelle est qualifiée de « négative » lorsque les trois valeurs restent en dessous du seuil inférieur. Une mamelle est « douteuse » dans tous les autres cas.

b. Au début de la campagne N+1

En début de campagne, nous avons utilisé les trois premiers contrôles laitiers : le 22 novembre 2014, le 09 décembre 2014 et le 19 décembre 2014 pour les premières mises bas (le pic d'agnelage se situant vers le 10 octobre 2014) ; le 09 décembre 2014, le 19 décembre 2014 et le 16 janvier 2014 pour les mises bas plus tardives (mais encore incluses dans

l'étude). Pour toutes ces dates, le seuil inférieur a été fixé à 200 000 et le seuil supérieur à 600 000 cellules par millilitre. Les mêmes conditions que celles appliquées au tarissement ont été utilisées pour déterminer le statut de chaque mamelle.

3. Critère 3

Le critère 3 se fonde exclusivement sur les comptages cellulaires, à l'échelon des mamelles et des hémi-mamelles.

Afin de définir un statut cellulaire par brebis plus précis qu'avec le critère 2, nous avons utilisé les trois mêmes contrôles laitiers que précédemment et la série de comptages cellulaires par hémi-mamelle obtenue lors de notre visite de fin de lactation, le 27 mai 2014.

Nous avons pondéré les valeurs de ces derniers comptages grâce aux déséquilibres mammaires. Le petit côté d'une mamelle asymétrique contient moins de lait et donc une concentration en cellules plus importante. Nous avons donc appliqué des coefficients adaptés présentés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Valeurs de pondération appliquées en fonction du grade des déséquilibres.

Déséquilibre	N	1	2	3	4
Petit côté	a = 2,5/5	a = 2/5	a = 1,5/5	a = 1/5	a = 0,5/5
Grand côté	b = 2,5/5	b = 3/5	b = 3,5/5	b = 4/5	b = 4,5/5

Nous avons ensuite appliqué la formule suivante pour chaque brebis :

$$CCS\ brebis = CCS\ droite \times a + CCS\ gauche \times b$$

Les résultats obtenus nous ont ainsi permis de passer de trois à quatre valeurs par brebis. Nous avons appliqué les mêmes conditions que précédemment, au tarissement avec J_{FL} et à la mise bas avec J_4 , J_{10} et J_{40} .

4. Critère 4

Le critère 4 se fonde sur les comptages cellulaires à l'échelon de l'hémi-mamelle.

Sur le même principe que celui réalisé à l'échelle de la brebis, nous avons fixé des seuils inférieur et supérieur. Ces seuils varient en fonction du stade de lactation ; de plus, nous avons intégré le rang de lactation pour le seuil inférieur. Les deux tableaux suivants présentent les seuils choisis au cours des campagnes laitières N et N+1. Ces seuils à l'échelon des hémi-mamelles sont majorés par rapport aux seuils relatifs aux mamelles.

Tableau 7 : Variation en fonction du stade et du rang de lactation des seuils établis pour définir le statut cellulaire d'une hémi-mamelle en fin de campagne N (critère 4).

Dates	Seuils inférieurs Rang 1	Seuils inférieurs Rang 2	Seuils inférieurs Rang 3	Seuils inférieurs Rang 4	Seuils inférieurs Rang 5 et +	Seuils supérieurs
J _{FL} = 27/05/2014	400 000	450 000	500 000	550 000	600 000	2 000 000
24/06/2014	600 000	680 000	760 000	840 000	920 000	5 000 000
J _T = 15/07/2014	600 000	680 000	760 000	840 000	920 000	5 000 000

Ces seuils par hémi-mamelles sont majorés par rapport aux seuils par mamelle.

Tableau 8 : Variation en fonction du stade et du rang de lactation des seuils établis pour définir le statut cellulaire d'une hémi-mamelle en début de campagne N+1 (critère4).

Dates	Seuils inférieurs Rang <=4	Seuils inférieurs Rang 5 et +	Seuils supérieurs
J ₄	450 000	500 000	1 500 000
J ₁₀	350 000	400 000	1 000 000
J ₄₀	300 000	350 000	-

a. A la fin de la campagne N

Pour la campagne laitière N, la caractérisation cellulaire du statut infectieux présumé des hémi-mamelles se fonde sur les résultats des comptages cellulaires des 27 mai (J_{FL}) et 15 juillet 2014 (J_T), soit respectivement à la fin de la campagne laitière N et au tarissement. Nous

avons défini différentes conditions afin de répartir les héli-mamelles dans les trois catégories habituelles (« positif », « douteux » et « négatif »).

La première condition prend en compte le fait qu'une élévation physiologique des valeurs survient en fin de lactation, et plus particulièrement au tarissement (concentration cellulaire lié à une production plus faible, indépendamment du statut infectieux). Pour cette raison, certains comptages cellulaires à J_{FL} et J_T ont été exclus des valeurs à considérer pour la caractérisation des statuts cellulaires. La Figure 22 présente une représentation des différents seuils choisis et des trois classes de valeurs utilisées pour caractériser les statuts cellulaires.

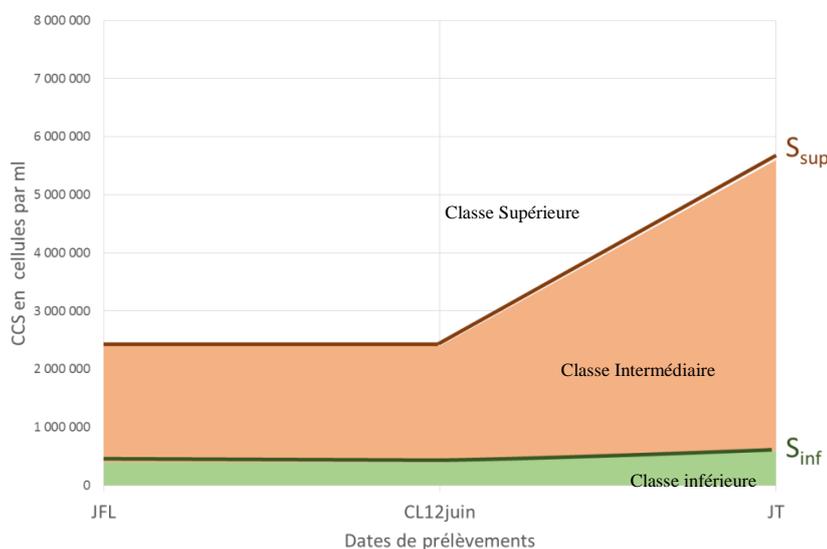


Figure 22 : Représentation des seuils inférieurs et supérieurs et détermination de trois classes de valeurs cellulaires.

J_{FL} : 27/05/2014

J_T : 15/07/2014

En fin de lactation, à J_{FL} , les valeurs obtenues ont été validés si et seulement si :

- les comptages cellulaires des deux héli-mamelles (droite et gauche) étaient dans la classe inférieure,
- le comptage cellulaire d'une héli-mamelle était dans la classe inférieure et celui de l'héli-mamelle contro-latérale dans la classe supérieure,
- l'écart entre les comptages cellulaires des deux héli-mamelles était supérieur à $\Delta = 1\ 000\ 000$ cellules/ml.

Au tarissement, à J_T , les valeurs ont été validées si et seulement si :

- les comptages cellulaires des deux héli-mamelles étaient dans la classe inférieure,
- le comptage cellulaire d'une héli-mamelle était dans la classe inférieure et celui de l'héli-mamelle contro-latérale dans la classe supérieure,
- l'écart entre les comptages cellulaires était supérieur à $\Delta = 1\,500\,000$ cellules/ml entre les comptages cellulaires d'une héli-mamelle dans la classe intermédiaire et ceux de l'héli-mamelle contro-latérale dans la classe supérieure (respectivement dans classe inférieure et la classe intermédiaire).

Les conditions utilisées ensuite prennent en compte la concordance, la discordance ou la complémentarité des informations apportées par les comptages cellulaires en fin de lactation et du tarissement. La Figure 23 représente les conditions que nous avons appliquées.

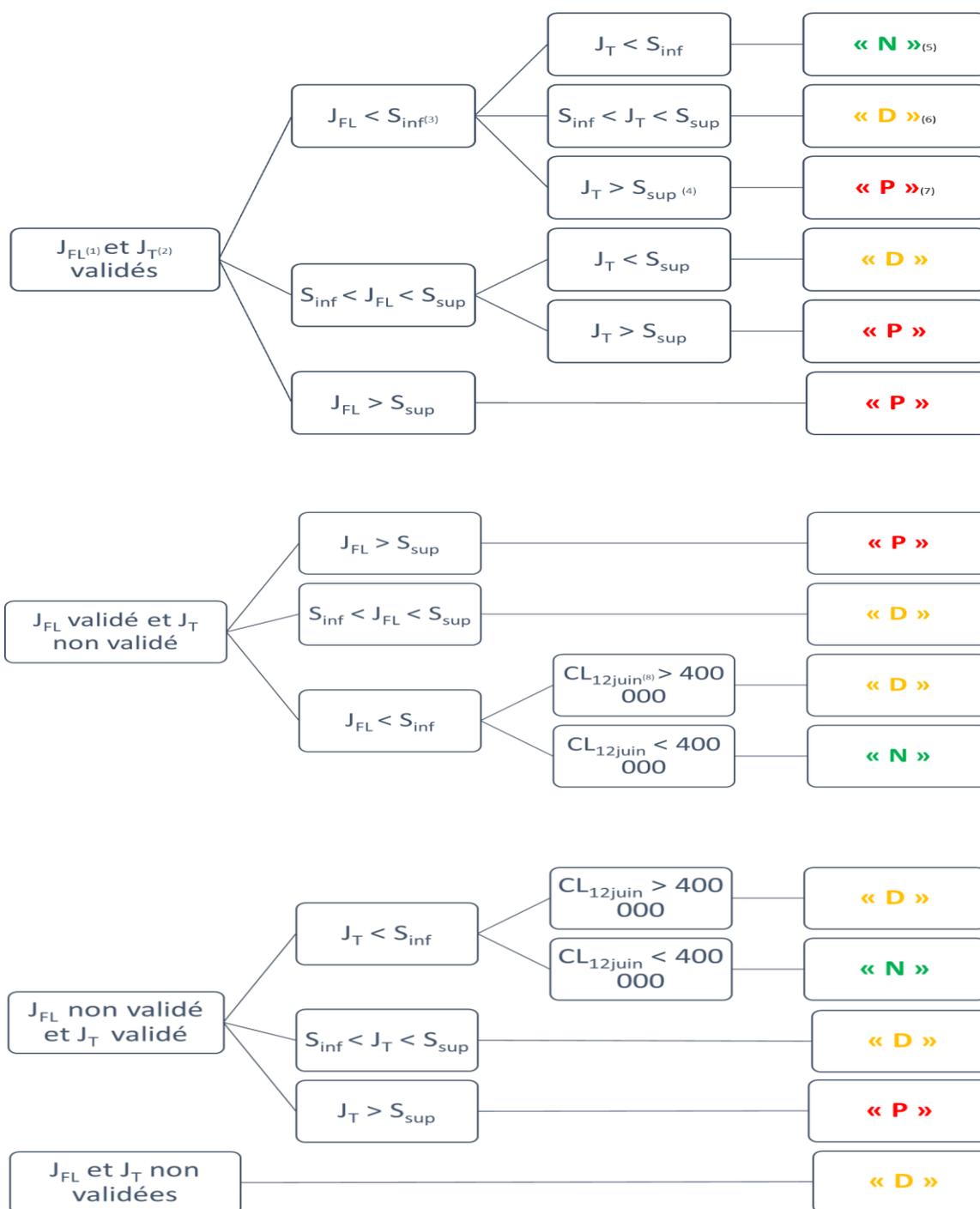


Figure 23: Caractérisation du statut des héli-mamelles au tarissement (critère 4).

- (1) Comptages cellulaires par héli-mamelles réalisés le 27 mai 2014
- (2) Comptages cellulaires par héli-mamelles réalisés le 15 juillet 2014
- (3) Seuil inférieur
- (4) Seuil supérieur
- (5) Héli-mamelle « négative »
- (6) Héli-mamelle « douteuse »
- (7) Héli-mamelle « positive »
- (8) Comptages cellulaires individuels réalisés le 12 juin 2014.

b. Au début de la campagne N+1

Pour la campagne N+1, à la mise bas, nous avons caractérisé le statut des hémimamelles en suivant les mêmes étapes que précédemment.

La première condition nous a permis de valider nos résultats de comptages cellulaires à J4 et à J10 en tenant compte de l'effet concentration des cellules dans le lait (effet moindre qu'au tarissement). Quatre jours après la mise bas, à J₄, les comptages cellulaires d'une hémimamelle ont été validés si et seulement si :

- les comptages cellulaires des deux hémimamelles (droite et gauche) étaient en dessous du seuil inférieur,
- le comptage cellulaire d'une hémimamelle était en dessous du seuil inférieur et celui de l'hémimamelle contro-latérale dépassait le seuil supérieur,
- l'écart entre les comptages cellulaires des deux hémimamelles était supérieur à $\Delta = 500\ 000$ cellules/ml.

Dix jours après la mise bas, à J₁₀, les comptages cellulaires d'une hémimamelle ont été validés si et seulement si :

- les comptages cellulaires des deux hémimamelles (droite et gauche) étaient en dessous du seuil inférieur,
- le comptage cellulaire d'une hémimamelle était en dessous du seuil inférieur et le comptage cellulaire de l'hémimamelle contro-latérale dépassait le seuil supérieur,
- l'écart entre les comptages cellulaires des deux hémimamelles était supérieur à $\Delta = 300\ 000$ cellules/ml.

Les autres conditions utilisées pour définir nos statuts cytologiques sont résumées dans la Figure 24.

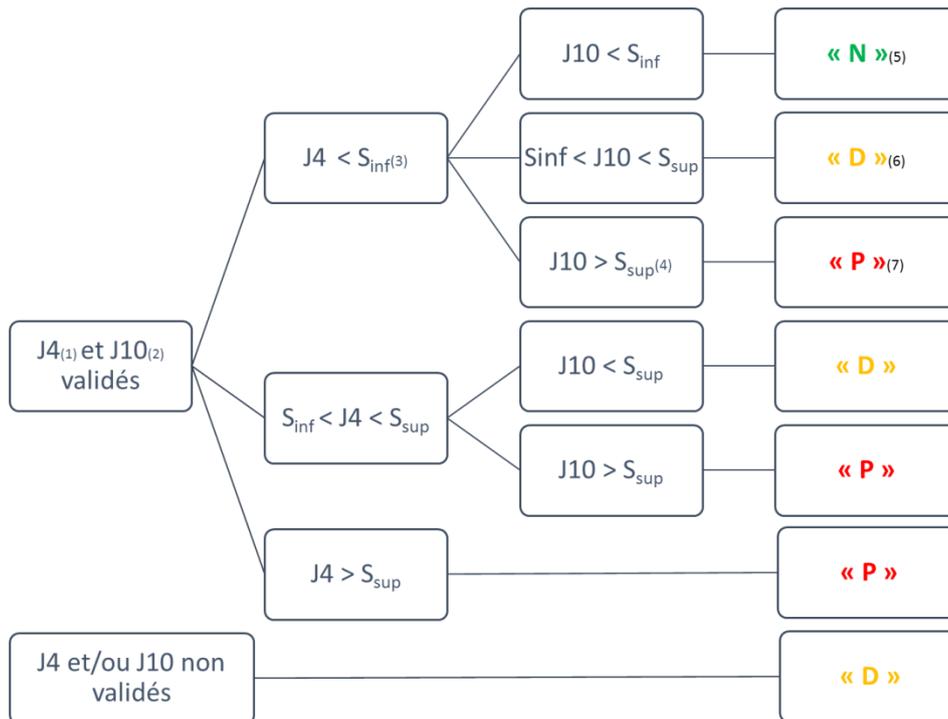


Figure 24 : Caractérisation du statut cytologique d'une hémimamelle à la mise bas.

- (1) Comptages cellulaires réalisés 4 jours après la mise bas
- (2) Comptages cellulaires réalisés 10 jours après la mise-bas
- (3) Seuil inférieur
- (4) Seuil supérieur
- (5) Hémimamelle « négative »
- (6) Hémimamelle « douteuse »
- (7) Hémimamelle « positive ».

5. Critère 5

Pour perfectionner le critère 4 défini précédemment et contribuer à définir le statut des hémimamelles classées « douteuses », nous avons combiné les résultats cellulaires obtenus par hémimamelle et les examens cliniques mammaires.

Ainsi, lorsqu'une hémimamelle était « douteuse » selon le critère 4, nous avons regardé les résultats des examens cliniques : si l'hémimamelle était « positive » selon le critère 1, elle devenait « positive », sinon elle reste « douteuse ».

6. Critère 6

Le dernier critère se fonde sur les données bactériologiques. Suite à la PCR *Staphylococcus spp.*, nous avons obtenu deux types de résultats :

- absence d'amplification : cette classe correspond aux échantillons pour lesquelles la présence de *Staphylococcus spp.* n'a pas pu être mise en évidence (d'autres germes peuvent néanmoins être présents).
- amplification : les autres échantillons ont été amplifiés au bout d'un certain nombre de cycles. Les CT obtenus ont été transformés en « équivalents gènes ».

Parmi les échantillons qui ont été amplifiés, plusieurs cas sont possibles :

- échantillons avec un CT très élevé, soit un nombre d'« équivalents gènes » très faible : la présence de *Staphylococcus spp.* n'est pas avérée (bruit de fond),
- échantillons avec un nombre d'équivalents gènes relativement faible : la présence de *Staphylococcus spp.* est avérée, mais la faible quantité peut s'expliquer par une contamination lors du prélèvement et non par une excrétion vraie,
- échantillons avec un nombre d'équivalents gènes élevé : il peut s'agir d'une excrétion vraie ou, moins probablement d'une contamination extérieure.

Par conséquent, pour interpréter les résultats obtenus, nous avons défini un seuil inférieur et un seuil supérieur (Figure 25). La valeur exacte de ces seuils sera fixée après obtention des résultats PCR et notamment après comparaison des échantillons réalisés en duplicata. Les échantillons seront ainsi divisés en trois classes :

- classe inférieure : résultat considéré comme négatif (bruit de fond et vrais positifs faibles indissociables),
- classe intermédiaire : excrétion vraie ou contamination (lors du prélèvement),
- classe supérieure : excrétion vraie.

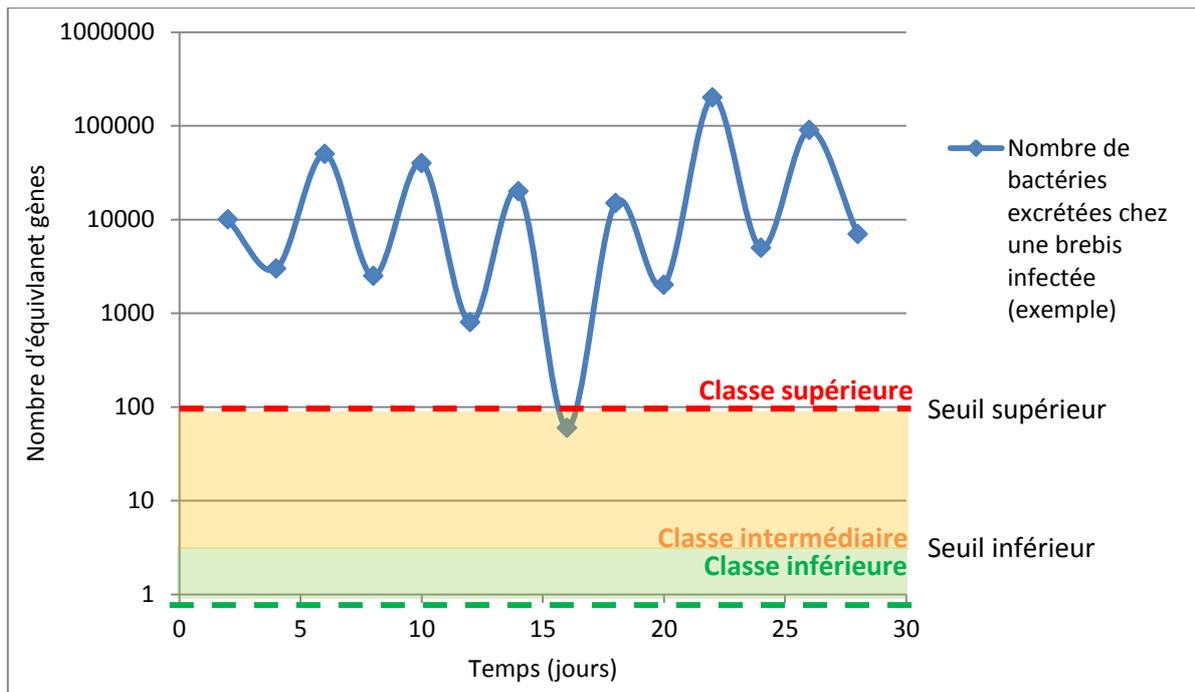


Figure 25: Détermination de deux seuils pour la caractérisation du statut bactériologique dans le cadre du critère 6 (courbe-type).

a. A la fin de la campagne N

Nous avons effectué deux prélèvements bactériologiques au tarissement, à J_{FL} et J_T . En associant ces deux résultats, nous avons défini un statut pour chaque héli-mamelle :

- au moins un résultat dans la classe supérieure : « positif »,
- deux résultats dans la classe intermédiaire : « présumé positif »,
- un résultat dans la classe intermédiaire et l'autre dans la classe inférieure ou n'ayant pas été amplifié : « douteux »,
- tous les résultats dans la classe inférieure ou n'ayant pas été amplifié : « négatif ».

b. Au début de la campagne N+1

Nous avons appliqué le même principe pour définir le statut bactériologique à la mise-bas, en comparant les résultats obtenus à J_0 et J_4 .

Pour la majeure partie de la suite de l'étude, nous avons regroupé la classe « présumé positif » avec la classe « positif ».

7. Synthèse des critères

Le Tableau 9 reprend pour chaque critère les différents paramètres utilisés afin de définir le statut d'une mamelle ou d'une héli-mamelle.

Tableau 9: Synthèse des 6 critères permettant de définir le statut d'une mamelle (ou d'une héli-mamelle).

Critère	Echelle	Observations cliniques	Comptages cellulaires par mamelle (CL)	Comptages cellulaires par héli-mamelle	Bactériologie (PCR)
Critère 1	Héli-mamelle	2 dates en N (J _{FL} et J _T) - 1 date en N+1 (J ₄)			
Critère 2	Mamelle		3 dates de CL en N - 3 dates de CL en N+1		
Critère 3	Mamelle		3 dates de CL en N - 3 dates de CL en N+1	1 date en N (J _{FL}) - 3 dates en N+1 (J ₄ , J ₁₀ et J ₄₀)	
Critère 4	Héli-mamelle			2 dates en N (J _{FL} et J _T) - 2 dates en N+1 (J ₄ et J ₁₀)	
Critère 5	Héli-mamelle	2 dates en N (J _{FL} et J _T) - 1 date en N+1 (J ₄)		2 dates en N (J _{FL} et J _T) - 2 dates en N+1 (J ₄ et J ₁₀)	
Critère 6	Héli-mamelle				2 dates en N (J _{FL} et J _T) - 2 dates en N+1 (J ₀ et J ₄)

CL : Contrôle laitier, N : campagne laitière précédant le traitement au tarissement, N+1 : campagne laitière suivant le traitement au tarissement.

8. Correspondance entre les statuts et la sélection des mamelles et des hémi-mamelles à traiter

Après avoir défini 3 lots homogènes, nous avons appliqué un traitement sélectif dans les lots B et C. Le choix des brebis et des hémi-mamelles à traiter a été défini dans « MATERIEL ET METHODES IV. 3. Stratégie de traitement de chaque lots et sélection des hémi-mamelles à traiter ». Comme nous ne possédions pas l'ensemble des données cellulaires (hémi-mamelles), cliniques et surtout bactériologiques au moment de choisir les mamelles et hémi-mamelles à traiter, un petit nombre de brebis dites « positives » pour un de nos critères peut ne pas avoir reçu de traitement, tandis que des brebis dites « négatives » peuvent avoir été traitées. Le Tableau 10 s'applique à regarder la concordance entre les statuts définis pour chacun des critères et le choix des mamelles et hémi-mamelles à traiter. Les nombres indiqués en gras dans le tableau correspondent aux mamelles ou aux hémi-mamelles considérées comme « positives » avec nos critères, mais qui n'ont pas été traitées au tarissement.

Tableau 10 : Correspondance entre les statuts et la sélection des mamelles et des hémi-mamelles à traiter.

		Traitées (n=154 mamelles, n=284 hémi-mamelles)	Non traitées (n=114 mamelles, n=252 hémi-mamelles)
Critère 1	Positif	71	18
	Douteux	85	61
	Négatif	128 (dont 95 dans le lot A)	173
Critère 2	Positif	20	0
	Douteux	76	15
	Négatif	58 (dont 50 dans le lot A)	99
Critère 3	Positif	28	0
	Douteux	77	17
	Négatif	49 (dont 45 dans le lot A)	97
Critère 4	Positif	27	14
	Douteux	120	47
	Négatif	137 (dont 103 dans le lot A)	191
Critère 5	Positif	74	22
	Douteux	73	39
	Négatif	137 (dont 103 dans le lot A)	191
Critère 6	Positif	28	28
	Douteux	97	71
	Négatif	159 (dont 98 dans le lot A)	153

9. Evolution des statuts entre N et N+1

Pour chacun des 6 critères, nous avons attribué un statut pour la campagne N et pour la campagne N+1 (« positif », « douteux » ou « négatif »). Une mamelle, ou une hémi-mamelle, peut évoluer de plusieurs façons pendant la période sèche (Tableau 11).

Tableau 11 : Evolution des statuts entre la fin de la campagne N et le début de la campagne N+1.

		Statut au début de la campagne N+1		
		« négatif »	« douteux »	« positif »
Statut à la fin de la campagne N	« négatif »	Maintien de négativité	Nouvelle infection ?	Nouvelle infection
	« douteux »	Elimination de l'infection ?	Persistance	Persistance ?
	« positif »	Elimination de l'infection	Elimination de l'infection ?	Persistance vraie ou substitution d'infection

Parmi les différentes possibilités d'évolution au cours de la période sèche, nous n'avons retenu que les quatre représentées en gras dans le Tableau 11. Il s'agit de :

- maintien de négativité : une mamelle (ou une hémi-mamelle) négative à N reste négative à N+1,
- nouvelle infection : une mamelle (ou une hémi-mamelle) négative à N devient positive à N+1,
- persistance vraie ou substitution d'infection : une mamelle (ou une hémi-mamelle) positive à N reste positive à N+1, l'espèce bactérienne pouvant varier,
- élimination de l'infection : une mamelle (ou une hémi-mamelle) positive à N devient négative à N+1.

Dans la suite de l'étude, nous avons calculé des pourcentages d'élimination d'infection (aspect curatif) et des pourcentages de nouvelles infections (aspect préventif). Ces pourcentages ont été calculés comme suit :

- pourcentage d'élimination d'infection : nombre de mamelles (ou d'hémi-mamelles) négatives à N+1 alors qu'elles étaient positives à N / le nombre total de mamelles (ou d'hémi-mamelles) positives à N,
- pourcentage de nouvelles infections : nombre de mamelles (ou d'hémi-mamelles) positives à N+1 alors qu'elles étaient négatives à N / le nombre total de mamelles (ou d'hémi-mamelles) négatives à N.

VII. Analyses statistiques

Pour comparer les trois lots, nous avons réalisé des tests du Khi-2 sous Excel lorsque les variables étaient qualitatives. Les variables quantitatives ont été étudiées par une analyse de variance (ANOVA) à l'aide du logiciel R. Au préalable, afin de normaliser les distributions, une transformation logarithmique des valeurs brutes a été réalisée pour les comptages cellulaires et la production laitière.

Les pourcentages d'élimination d'infection ont été comparés par un test du Khi-2 (Excel). Lorsque les échantillons étaient trop restreints, un Khi-2 de Yates a été réalisé. Le même principe a été appliqué pour comparer les pourcentages de nouvelles infections.

Une régression logistique a été réalisée pour étudier l'association de certains facteurs avec la probabilité d'élimination de l'infection, et des odds ratio ont été calculés en utilisant R. Le même principe a été appliqué pour étudier l'association de ces facteurs avec la probabilité d'une nouvelle infection.

Les seuils de « significativité » ont été indiqués comme suit, avec « p » désignant la probabilité obtenue :

- « ' » : $p < 0,1$
- « * » : $p < 0,05$
- « ** » : $p < 0,01$
- « *** » : $p < 0,001$.

RESULTATS

I. Validation de l'allotement et caractérisation des lots

Au début de l'étude, les 311 brebis sélectionnées ont été divisées en trois lots homogènes. Lors de la campagne laitière suivante, certaines brebis ont dû être retirées de l'étude pour les raisons indiquées ci-dessus. Cette première partie s'applique donc à vérifier l'homogénéité des trois lots obtenus après le retrait de ces brebis et, par ailleurs, présente les éléments de caractérisation des animaux sélectionnés lors de la campagne laitière N.

1. Caractérisation zootechnique

a. Effectifs

Un plus grand nombre de brebis a disparu des lots A et B, entraînant un léger déséquilibre en faveur du lot C. Nous obtenons ainsi 93 brebis dans le lot C et 87 et 88 dans les lots A et B. Les différences entre les lots à la mise bas ne sont pas significatives (test du Khi-2 : $p > 0,58$).

Tableau 12 : Effectifs par lot.

	Lot A	Lot B	Lot C	Ensemble
Effectif au tarissement	34% (103/301)	35% (104/301)	35% (104/301)	n=311
Effectif <i>post partum</i>	32% (87/268)	33% (88/268)	35% (93/268)	n=268

b. Rang de lactation

A l'échelle du troupeau, la moyenne est de 2,3. Quarante vingt dix sept brebis étaient à leur première lactation (soit 36,2%), 70 à leur deuxième lactation (soit 26,1%), 45 à leur troisième lactation (soit 16,8%) et le reste du troupeau a un rang de lactation supérieur à 3

(soit 20,9%). Nous avons ensuite comparé les trois lots : le même type de pourcentage est retrouvé. Aucune différence significative n'est retrouvée ($p=0,97$).

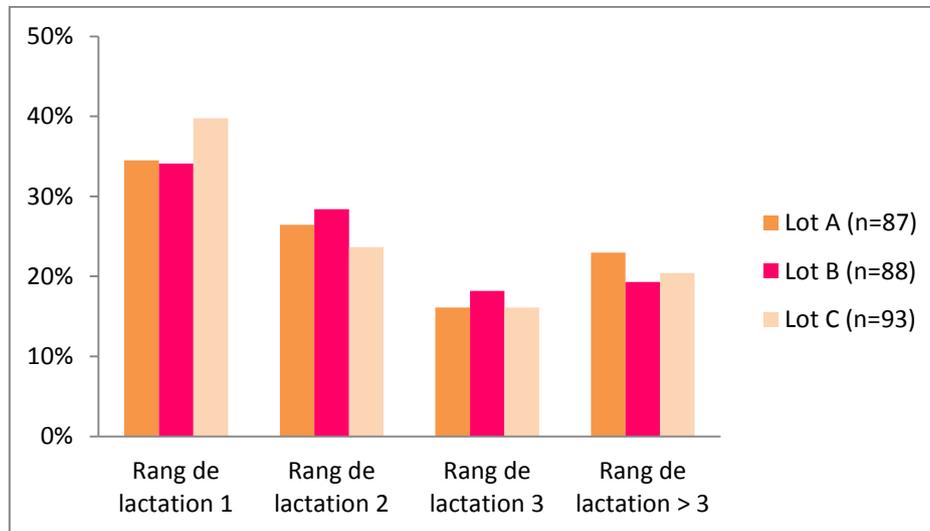


Figure 26 : Répartition des brebis en fonction de leur rang de lactation.
(ANOVA : $p=0,97$).

c. Stade de lactation

Pour estimer le stade de lactation au moment du tarissement, nous avons calculé le nombre de jours écoulés entre la mise bas et le tarissement pour chaque brebis. La médiane est de 261 jours dans le troupeau, pour un minimum de 127 et un maximum de 275 jours. La même tendance est retrouvée dans les trois lots, sans différence significatives ($p=0,81$), avec une médiane de 261 jours dans chacun d'entre eux.

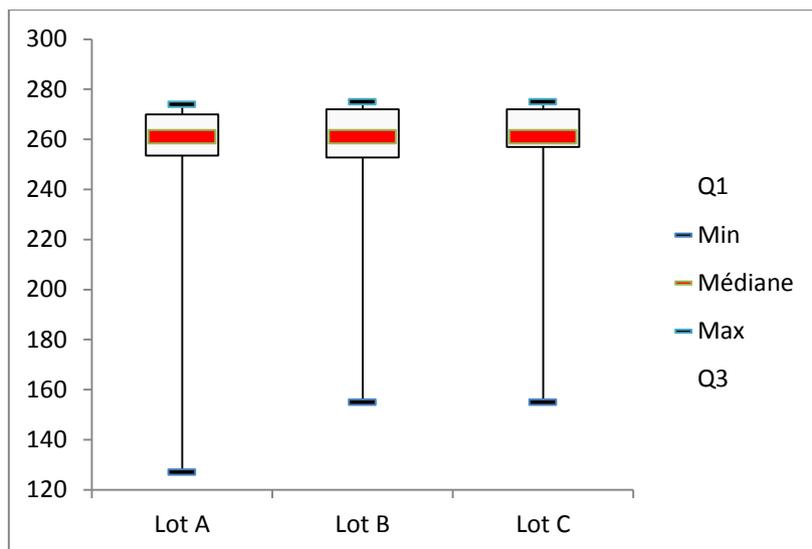


Figure 27 : Répartition des brebis en fonction leur stade de lactation.
(ANOVA : $p=0,81$).

d. Production laitière

La production laitière moyenne dans le troupeau a été de 297,82 L, avec une médiane de 305,50 L, un minimum de 46 L et un maximum de 441 L. La même répartition est retrouvée pour les trois lots avec des médianes respectivement égales à 303, 301 et 310 L ; différences non significatives ($p=0,63$).

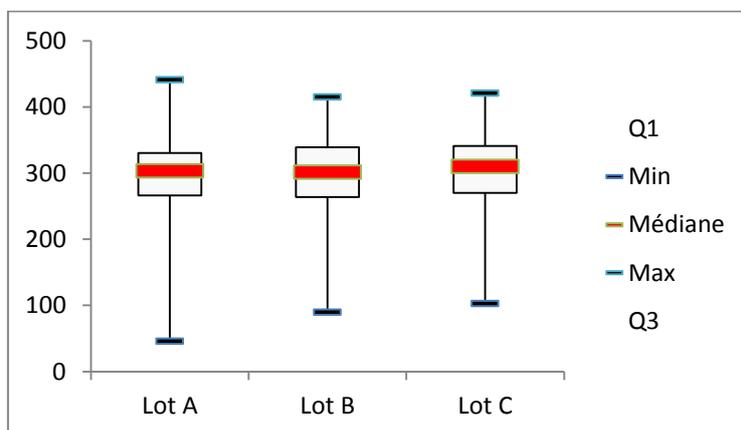


Figure 28 : Répartition des brebis en fonction de leur production laitière.
(ANOVA : $p=0,63$).

Grâce aux données des contrôles laitiers, nous avons également calculé l'aire sous la courbe effective de la production laitière sur toute la campagne N. La moyenne géométrique

est de 157 000 pour le troupeau. Aucune différence significative n'est mise en évidence entre les trois lots ($p=0,66$).

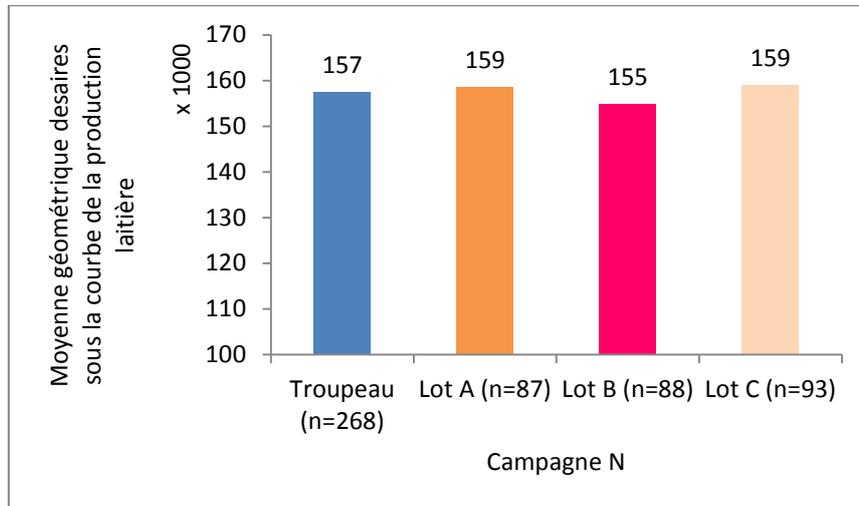


Figure 29: Moyennes géométriques des aires sous la courbe de production laitière (campagne N).
(ANOVA : $p=0,66$).

e. Index cellules, index lait et index production

Chaque brebis a un index cellules, lait et production. A l'échelle du troupeau, l'index cellules moyen est de $0,15 \pm 0,49$, l'index lait moyen est de $99,66 \pm 200,91$ et l'index production moyen est de $147,56 \pm 254,30$. Nous avons ensuite comparé la distribution de ces index dans les trois lots. Les différences ne sont pas significatives pour nos trois index, respectivement pour l'index cellules, l'index lait et l'index production : $p=0,55$, $p=0,19$ et $p=0,78$.

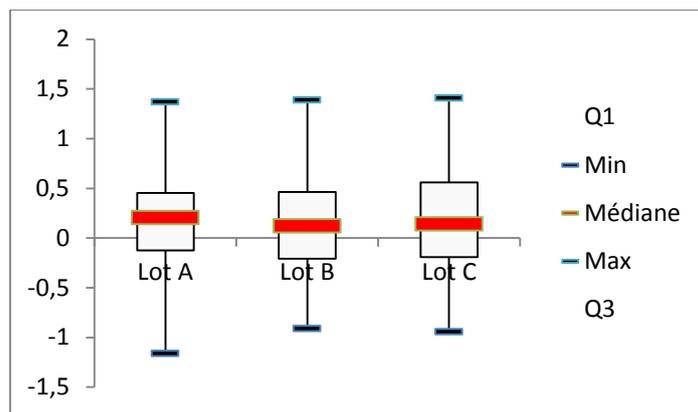


Figure 30 : Répartition des brebis en fonction de leur index cellules.
(ANOVA : $p=0,55$).

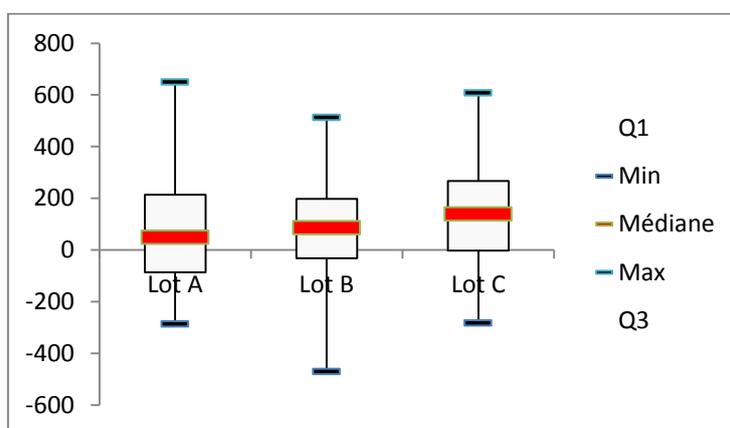


Figure 31 : Répartition des brebis en fonction de leur index lait.
(ANOVA : $p=0,19$).

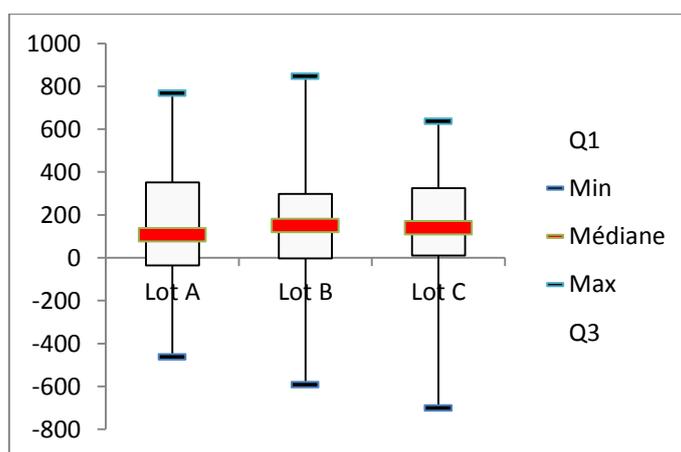


Figure 32 : Répartition des brebis en fonction de leur index production.
(ANOVA : $p=0,78$).

2. Caractérisation clinique

a. Statut clinique mammaire global des trois lots (critère 1)

Nous avons d'abord voulu vérifier que la répartition des héli-mamelles cliniquement « négatives », « douteuses », et « positives » (critère 1) est sensiblement la même dans les trois lots. La Figure 33 montre la répartition de ces trois statuts dans les trois lots. Les pourcentages d'héli-mamelles « positives », « douteuses » et « négatives » ont été respectivement pour les lots A, B et C : 8%, 33% et 59%, 9%, 28% et 62%, et 6%, 32% et 62%. Aucune différence significative n'est retrouvée ($p=0,72$).

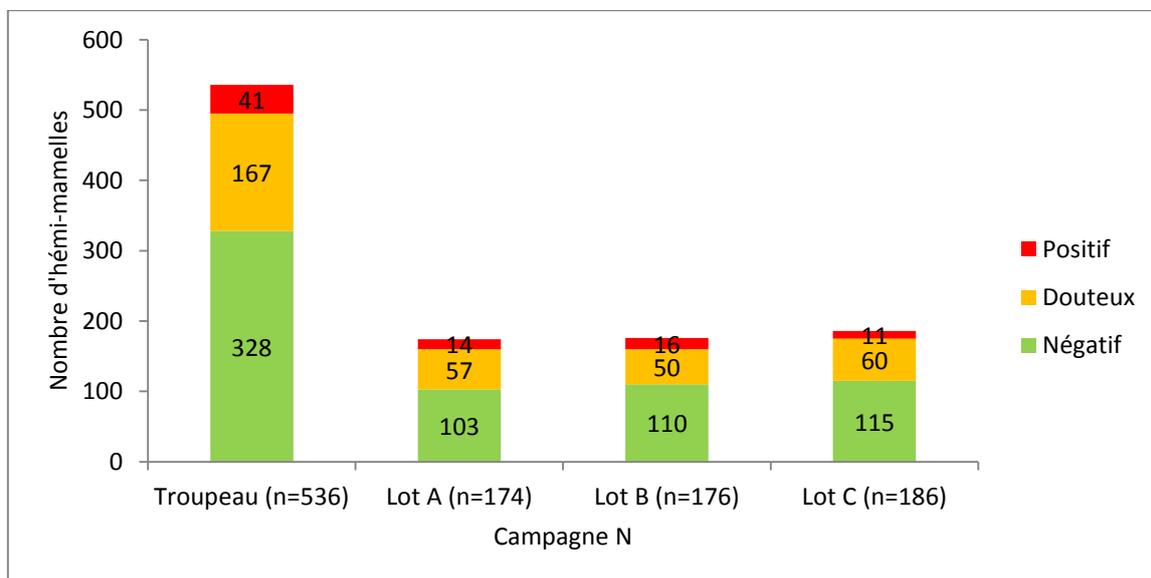


Figure 33: Répartition des statuts cliniques (campagne N, critère 1).
(Khi-2 : $p=0,72$).

b. Conformation mammaire

La répartition des brebis selon la morphologie de leur pis est indiquée dans le Tableau 13. On retrouve significativement plus de brebis avec une absence de déséquilibres dans le lot C que dans le lot B ($p=0,09$) et plus de brebis avec une asymétrie mammaire égale à 1 dans le lot A que dans le lot B ($p=0,09$).

Tableau 13 : Répartition des nombres de brebis en fonction de la conformation de leur mamelle (campagne N).

Asymétrie mammaire	Lot A	Lot B	Lot C	Troupeau
Absence	36% (49/138)	28% (a) (38/138)	37% (a) (51/138)	n=138
1	28% (b) (22/80)	40% (b) (32/80)	33% (26/80)	n=80
2	32% (16/50)	36% (18/50)	32% (16/50)	n=50

(a) et (b): différences significatives au seuil de 0,1.

c. Paramètres cliniques spécifiques

○ Déséquilibres de la mamelle

A J_{FL}, nous avons relevé les « déséquilibres » mammaires. La majorité des brebis ont pas ou peu de déséquilibre. En effet, 193 brebis ont un déséquilibre inférieur ou égal à 1 (soit 72%). Il existe quelques différences significatives entre les lots pour ces petits déséquilibres : il y a plus de brebis avec des mamelles équilibrées dans les lots A et C que dans le lot B (respectivement p=0,02 et p=0,086) et il y a significativement plus de brebis avec un déséquilibre de 1 dans le lot C que dans le lot A (p=0,044)

Parmi celles qui ont un déséquilibre marqué supérieur à 1 (c'est à dire ≥ 2), celui-ci est majoritairement à droite (50 brebis ont un déséquilibre à droite contre 25 à gauche).

Tableau 14 : Répartition des nombres de brebis en fonction des déséquilibres de la mamelle (campagne N).

Déséquilibre	Lot A	Lot B	Lot C	Troupeau
0	41% (a) (27/66)	23% (a)(b) (15/66)	36% (b) (24/66)	n=66
1	27% (c) (34/127)	35% (44/127)	39% (c) (49/127)	n=127
2	35% (20/57)	39% (22/57)	26% (15/57)	n=57
3	35% (6/17)	35% (6/17)	29% (5/17)	n=17
4	0%	100% (1/1)	0%	n=1

(a) et (c) : différences significatives au seuil de 0,05

(b) : différences significatives au seuil de 0,1

- *Nœuds lymphatiques rétro-mammaires*

La présence de nœuds lymphatiques de taille augmentée a également été notée lors des deux visites, ainsi que le ou les côtés atteints. Une grande partie du troupeau ne présente pas d'adénomégalie (68,3% à J_{FL} et 63,1% à J_T). Aucune différence significative entre nos trois lots ($p > 0,22$).

Tableau 15 : Répartition des nombres de brebis en fonction de la présence d'adénomégalie à J_{FL} (campagne N).

Adénomégalie SM ⁽¹⁾	Lot A	Lot B	Lot C	Troupeau
Absence	33% (61/183)	32% (59/183)	34% (63/183)	n=183
Unilatérale gauche	38% (13/34)	29% (10/34)	32% (11/34)	n=34
Unilatérale droite	25% (6/24)	42% (10/24)	33% (8/24)	n=24
Bilatérale	26% (7/27)	33% (9/27)	41% (11/27)	n=27

(1) SM : supra-mammaire.

Tableau 16 : Répartition des nombres de brebis en fonction de la présence d'adénomégalie à J_T (campagne N).

Adénomégalie SM ⁽¹⁾	Lot A	Lot B	Lot C	Troupeau
Absence	31% (53/169)	33% (56/169)	36% (60/169)	n=169
Unilatérale gauche	38% (10/26)	23% (6/26)	38% (10/26)	n=26
Unilatérale droite	23% (5/22)	41% (9/22)	36% (8/22)	n=22
Bilatérale	37% (19/51)	33% (17/51)	29% (15/51)	n=51

(1) SM : supra-mammaire.

- *Autres symptômes mammaires*

Nous avons enfin regardé d'autres signes indicateurs d'infections mammaires comme l'induration de la mamelle, la présence d'abcès, de kystes ou d'impétigo. A J_{FL}, 14 brebis présentaient une induration de la mamelle (soit 5.22%), contre 61 à J_T (soit 22.76%). Parmi les 61 brebis, une vingtaine présentait déjà une induration de la mamelle lors de la visite précédente. Les brebis présentant une induration ont été équitablement réparties dans les lots ($p > 0.1$). Très peu de brebis présentaient d'autres symptômes mammaires. En effet, sur les

deux dates, nous notons seulement 2 brebis avec des abcès, 2 brebis avec des kystes et 9 brebis avec un impétigo.

d. Note d'état corporel

Parmi les 268 brebis, 78 présentaient une note d'état corporel inférieure à deux lors de notre visite à J_T, au moment du tarissement. Ces brebis ont été réparties de façon homogène dans les trois lots : aucune différence significative ($p > 0,73$).

Tableau 17 : Répartition des nombres de brebis avec une note d'état corporel (NEC) < inférieure à 2 à la campagne N.

Note d'état corporel	Lot A	Lot B	Lot C	Troupeau
NEC<2	33% (26/78)	32% (25/78)	35% (27/78)	n=78

3. Caractérisation cellulaire (à l'échelle de la mamelle)

a. Statut cellulaire global des trois lots (critères 2 et 3)

La répartition des statuts pour les critères 2 et 3 est similaire entre les 3 lots pour la campagne N ($p > 0,1$).

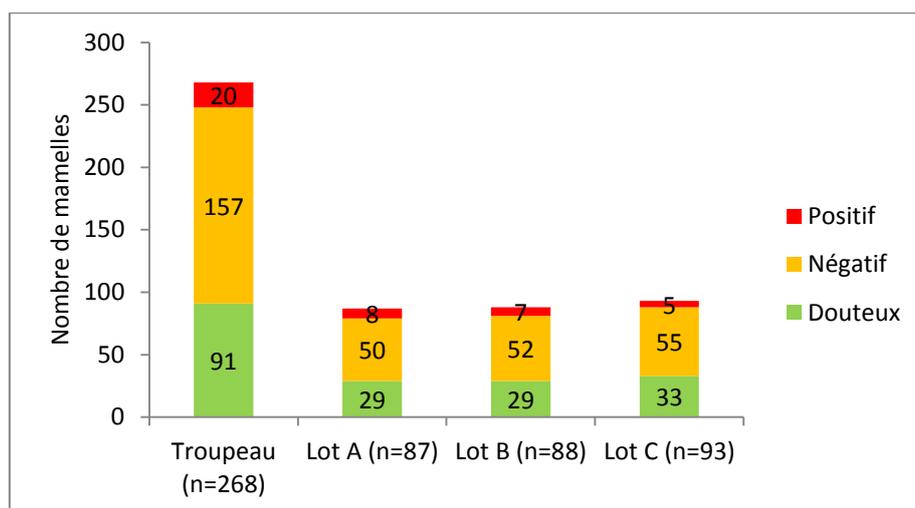


Figure 34: Répartition des statuts cellulaires des mamelles (campagne N, critère 2).
(Khi-2 : $p = 0,84$).

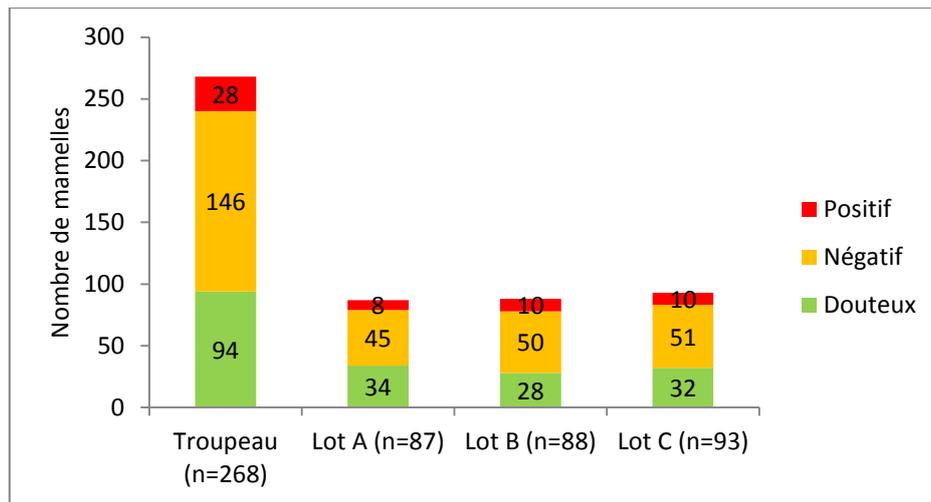


Figure 35: Répartition des statuts cellulaires des mamelles (campagne N, critère 3).
(Khi-2 : $p=0,95$).

b. Paramètres cellulaires spécifiques

○ *Nombre de mammites subcliniques*

Nous avons considéré que pour une brebis donnée, la même période inflammatoire (mammitte) était en cours tant que les valeurs de comptages cellulaires étaient au-dessus du seuil (défini à la Figure 17) lors des contrôles laitiers successifs. Pour quelques brebis nous avons deux suites de valeurs au-dessus du seuil, entrecoupées par une seule valeur en-dessous, nous avons considéré rester dans la même période inflammatoire ; lorsqu'elles étaient séparées de plus de deux mois nous avons supposé que ces brebis ont eu deux infections distinctes, possiblement par des germes différents. Nous avons donc conclu à la « fin » d'une mammitte lorsque deux valeurs de comptages cellulaires étaient inférieures au seuil. Aucune brebis n'a présenté plus de deux périodes d'inflammation lors de la campagne.

Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre nos trois lots ($p>0,51$).

Tableau 18 : Répartition des nombres de brebis en fonction du nombre de mammites (campagne N).

Nombre de mammites (subcliniques)	Lot A	Lot B	Lot C	Troupeau
0	33% (39/120)	32% (38/120)	36% (43/120)	n=120
1	32% (41/127)	33% (42/127)	35% (44/127)	n=127
2	33% (7/21)	38% (8/21)	28% (6/21)	n=21

○ *Durée des mammites*

Pour les brebis positives selon le critère 2, nous avons ensuite déterminé la durée de ces périodes d'inflammation mammaire. Celle-ci correspond au nombre de jours entre la date du contrôle laitier où la valeur des comptages cellulaires dépasse le seuil pour la première fois et celle où la valeur dépasse le seuil pour la dernière fois.

La durée des mammites est en moyenne de 59 jours, pour un minimum théorique de 1 jour (les cellules ne dépassent le seuil que pour un seul contrôle laitier) et un maximum de 214 jours. Nous avons distingué 8 différentes classes selon la durée de l'infection (Figure 36). Pour 40,2% des brebis la durée d'inflammation a été inférieure à un mois (une seule valeur au-dessus du seuil) et pour plus de 75% elle a été inférieure à 3 mois.

Nous avons ensuite vérifié que les brebis sont réparties de façon similaire en fonction de la durée de l'infection entre les 3 lots.

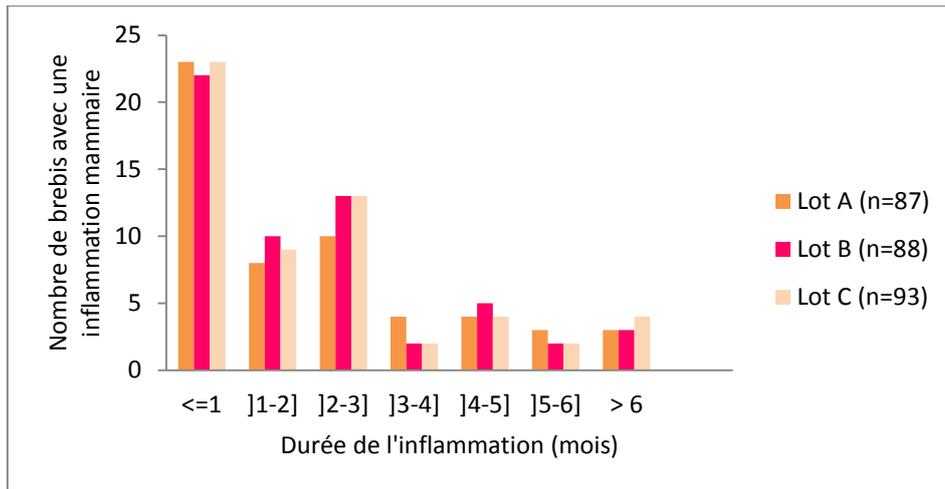


Figure 36 : Répartition des mammites en fonction de la durée de l'inflammation (campagne N).

○ *Début des mammites*

Nous avons calculé, pour chaque mois, le nombre de brebis présentant une nouvelle inflammation (première fois que les comptages cellulaires dépassent le seuil). Un pic apparaît en avril, il correspond à la mise à l'herbe, avec 58 brebis sur 148 débutant une inflammation (soit 39.19%). Cette tendance se retrouve dans les trois lots ($p > 0,1$).

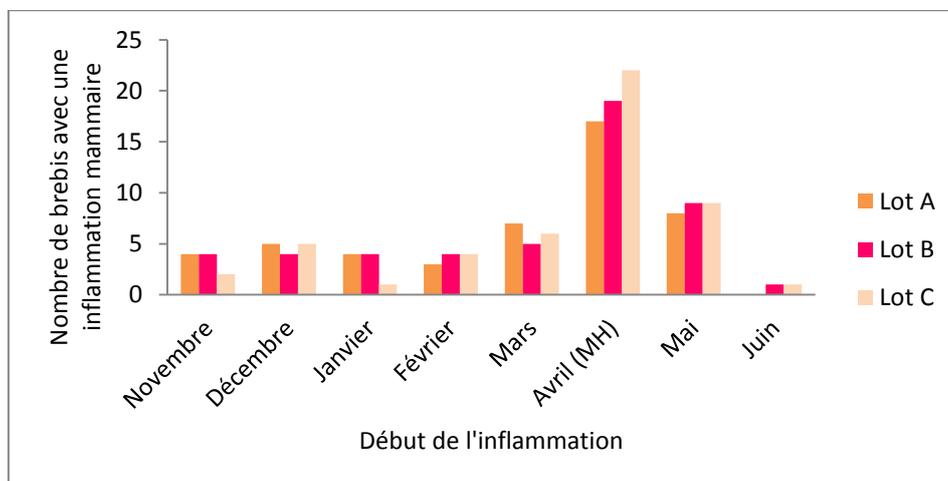


Figure 37 : Répartition des mammites en fonction du début de l'inflammation (campagne N).

○ *Intensité des mammites*

La moyenne géométrique des comptages cellulaires est de $311\,000 \pm 20\,000$. Nous avons calculé sur l'ensemble de la campagne N la moyenne géométrique des aires sous la

courbe des comptages cellulaires de l'ensemble des brebis, puis des différents lots. Après transformation logarithmique de ces aires, une analyse de variance a été réalisée et n'a pas montré de différence significative entre les 3 lots ($p=0,55$).

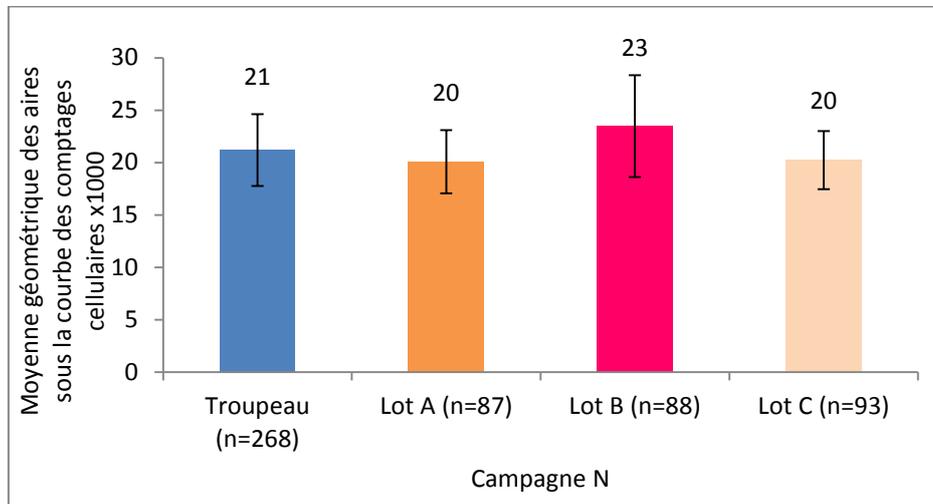


Figure 38 : Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires des trois lots lors de la campagne N.

(ANOVA : $p=0,55$ après transformation logarithmique).

Nous avons également calculé les aires sous la courbe des comptages cellulaires des trois derniers contrôles laitiers. Aucune différence significative n'est notée entre les lots ($p=0,71$).

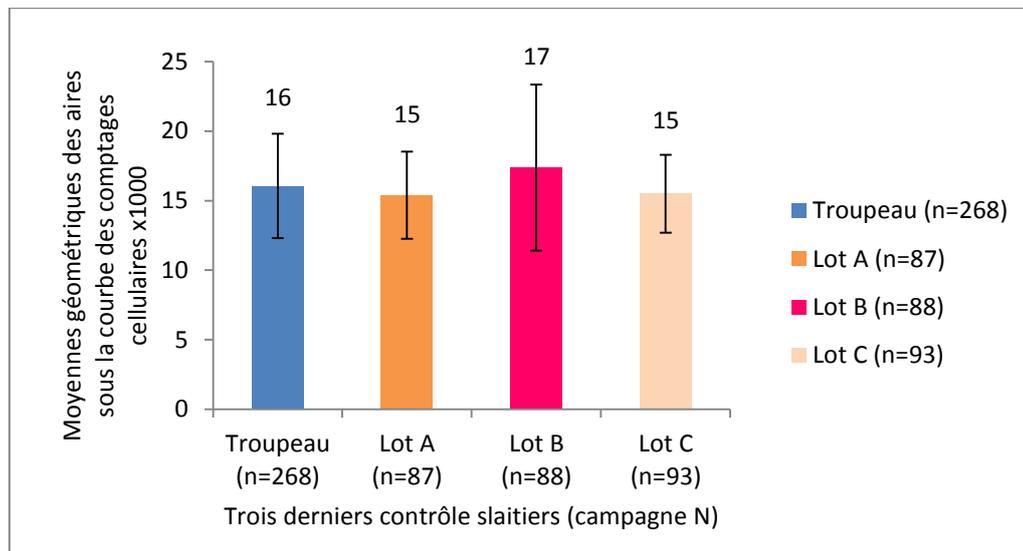


Figure 39: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires des trois lots pour les trois derniers contrôles laitiers (campagne N).

(ANOVA : $p=0,71$ après transformation logarithmique).

4. Caractérisation cellulaire (à l'échelle de l'hémi-mamelle)

a. Statut cellulaire global (critère 4)

Nous avons également essayé d'avoir les lots les plus homogènes possibles à l'échelle de l'hémi-mamelle. Lorsque les conditions du critère 4 sont remplies, la Figure 40 montre la répartition des 536 hémi-mamelles de notre étude à la fin de la campagne N. Aucune différence significative entre nos trois lots ($p=0,22$).

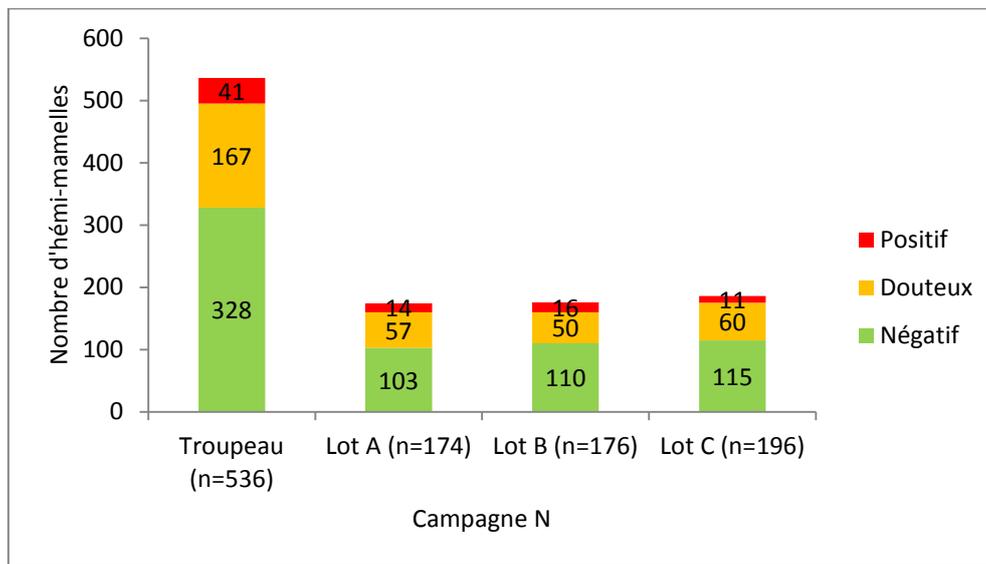


Figure 40 : Répartition des statuts des hémi-mamelles (campagne N, critère 4).
(Khi-2 : $p=0,22$).

b. Statut global combinant les comptages cellulaires et les examens cliniques (critère 5)

Pour le critère 5, la répartition des statuts entre les trois lots est également similaire ($p=0,97$).

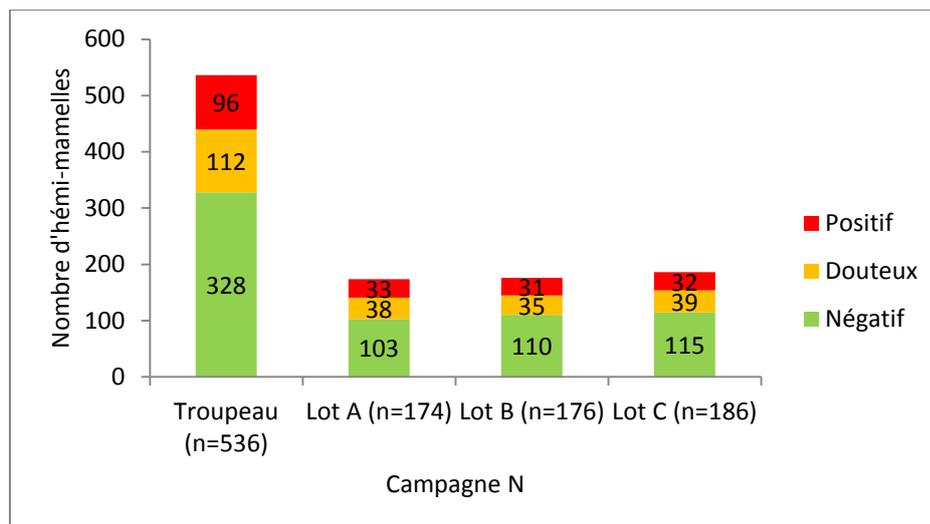


Figure 41: Répartition des statuts clinico-cellulaires des héli-mamelles (campagne N, critère 5).
(Khi-2 : p=0,97).

5. Caractérisation bactériologique

Nous ne possédions pas les données bactériologiques au moment d'effectuer la répartition en 3 lots. Nous avons vérifié *a posteriori* que la prévalence de *Staphylococcus spp.* était similaire dans les 3 lots selon le critère 6 (voir Figure 42).

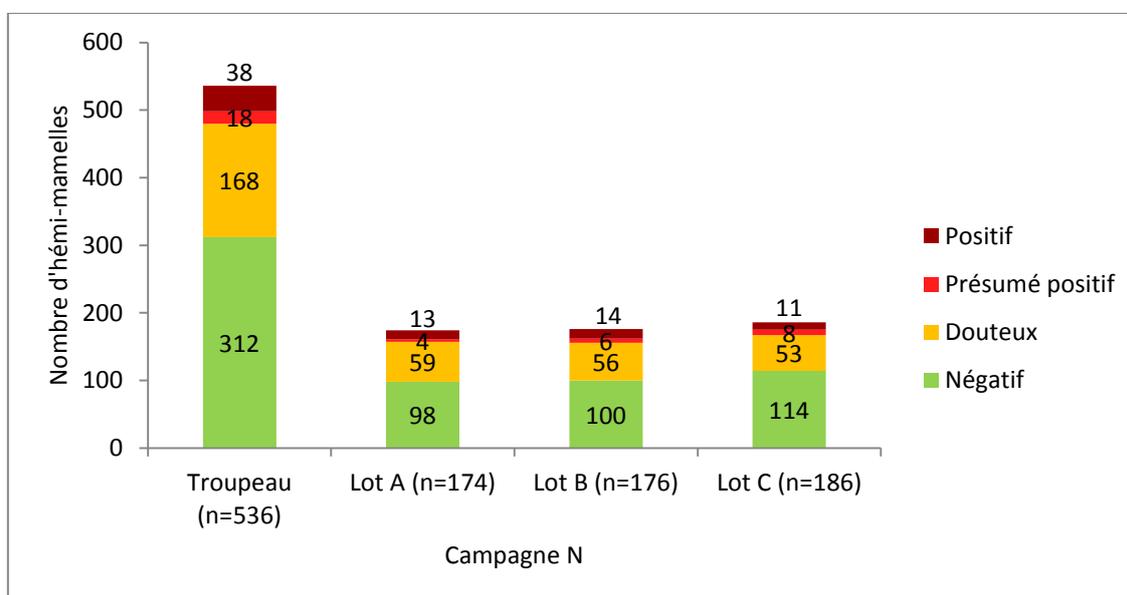


Figure 42 : Répartition des statuts bactériologiques des héli-mamelles (campagne N, critère 6).
(Khi-2 : p=0,82).

II. Efficacité curative et préventive de l'antibiothérapie et de l'antisepsie

La synthèse des résultats d'évaluation de l'efficacité se trouve au paragraphe 8 (page 145).

1. Tendance générale

La Figure 43 montre l'évolution des statuts au cours de la période sèche pour chacun des critères. Elle représente la différence entre le nombre de mamelles ou d'hémi-mamelles classées comme « positives » « douteuses » et « négatives » à la fin de la campagne N et au début de la campagne N+1.

Pour la majorité des critères (1, 2, 4 et 5), la même tendance est retrouvée entre la fin de la campagne N et le début de la campagne N+1 : le nombre d'hémi-mamelles considérées comme « douteuses » diminuent fortement. De plus, nous notons une augmentation simultanée du nombre de mamelles ou d'hémi-mamelles considérées comme « positives » et comme « négatives » pour les critères 1, 2 et 4. Pour le critère 5, seul le nombre de « négatives » augmente au cours de la période sèche.

Pour le critère 3 (critère cellulaire à l'échelle de la brebis), nous remarquons que la différence entre N et N+1 est très faible, quelque soit le statut.

Le critère 6 (critère bactériologique) se distingue des autres car c'est le seul critère où le nombre de « négatives » diminue fortement (de 19%). En revanche, les nombres de « douteuses » et de « positives » augmentent au cours de la période sèche pour ce critère.

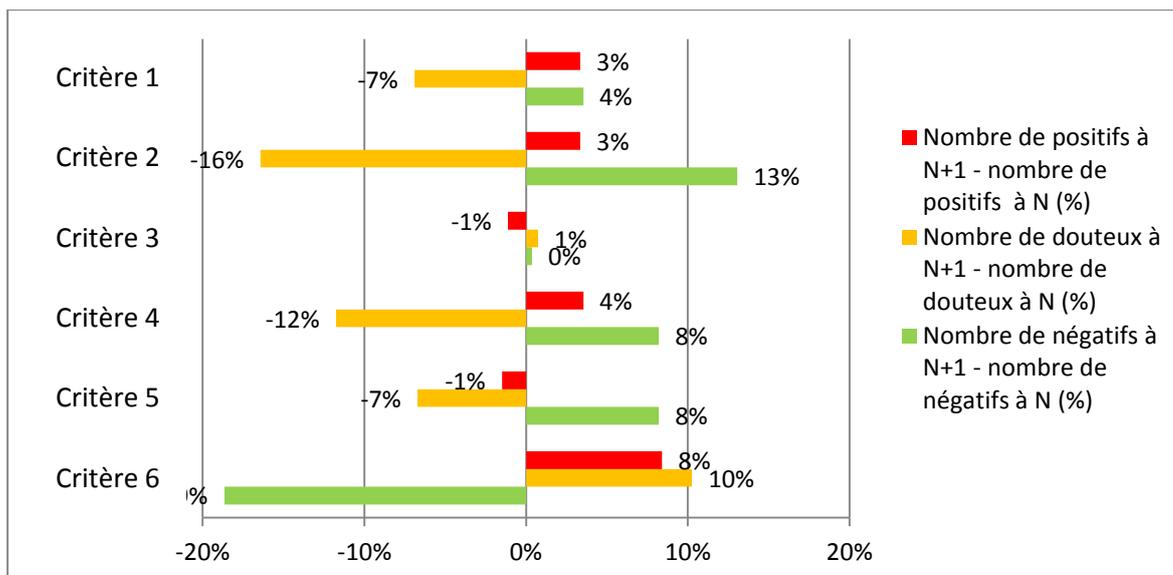


Figure 43 : Evolution des statuts au cours de la période sèche pour les 6 critères.

Dans l'ensemble, le nombre de « négatives » est donc plus élevé au début de la campagne N+1 qu'à la fin de la campagne N, sauf pour le critère 6. Des différences apparaissent néanmoins entre les critères. Nous allons dans la suite de cette partie détailler l'efficacité clinique, laitière, cellulaire et bactériologique, en nous appuyant sur nos différents critères. Pour chacun de ces aspects, nous nous sommes intéressés d'abord à l'évolution de paramètres généraux (nombre de mammites cliniques, moyennes de production laitière et de comptages cellulaires, etc...), puis au pourcentage d'élimination de l'infection (efficacité curative) et au pourcentage de nouvelles infections (efficacité préventive). Nous avons alors effectué des comparaisons entre les lots, entre les hémimamelles ayant reçues ou non l'antibiothérapie au tarissement et entre les hémimamelles ayant reçues ou non l'antisepsie en *peri partum*. Une synthèse des résultats obtenus est donnée en fin de partie.

2. Efficacité clinique (critère 1)

a. Nombre de mammites cliniques aiguës *post partum*

Au cours de la campagne N+1, 7 brebis ont présenté une mammite clinique aiguë dans le premier mois *post partum*. Nous n'avons pas retiré ces brebis des calculs : elles sont considérées comme « positives » cliniquement (et donc regroupées avec les brebis ayant

présenté des signes modérés –subaigus – de mammites). Une de ces brebis faisait partie du lot A, deux faisaient partie du lot B et les quatre restantes faisaient partie du lot C. La moitié des hémimamelles présentant une mammite clinique avait été traitée au tarissement, l'autre moitié n'avait pas reçue d'antibiothérapie (Tableau 19) Tableau 19 : Répartition des cas de mammites cliniques (campagne N+1)..

Tableau 19 : Répartition des cas de mammites cliniques (campagne N+1).

	Traitement antibiotique au tarissement	Absence de traitement antibiotique au tarissement	Antiseptie	Absence d'antiseptie	Total
Lot A	1	0	0	1	1
Lot B	1	0	0	2	2
Lot C	1	3	3	1	4
Troupeau	3	4	3	4	7

(Khi-2 de Yates : entre les lots A et B : $p=0,99$, entre les lots B et C : $p=0,72$, entre les lots A et C : $p=0,39$).

b. Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 1)

o Comparaison des lots

Parmi les hémimamelles cliniquement « positives » lors de la campagne laitière N, nous pouvons observer que 64% en moyenne ne présentent plus de symptômes mammaires à la campagne N+1. Ce pourcentage est plus élevé dans le lot A (67%) que dans les lots B et C (respectivement 64 et 61%). Aucune différence n'est significative au seuil de 0,05 (Figure 44).

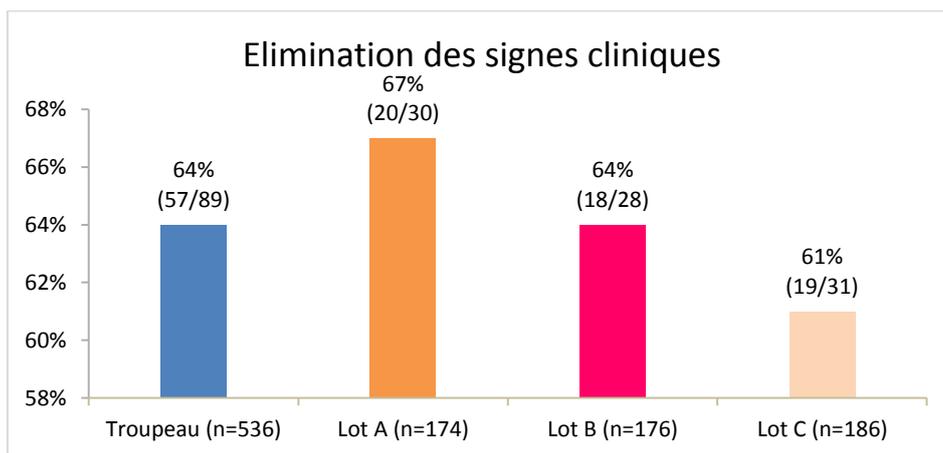


Figure 44 : Taux d'élimination stricte des signes cliniques (critère 1).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,85$; entre le lot B et le lot C $p=0,81$; entre le lot A et le lot C $p=0,66$).

Si l'on considère maintenant le taux d'élimination « partielle » des signes cliniques, nous prenons en compte les héli-mamelles cliniquement « positives » qui deviennent « douteuses » et les héli-mamelles « douteuses » cliniquement qui deviennent « négatives ». Dans ce cas, la tendance s'inverse : un taux d'élimination « partielle » significativement supérieur est obtenu dans le lot B par rapport au lot A ($p < 0,05$) (Figure 45).

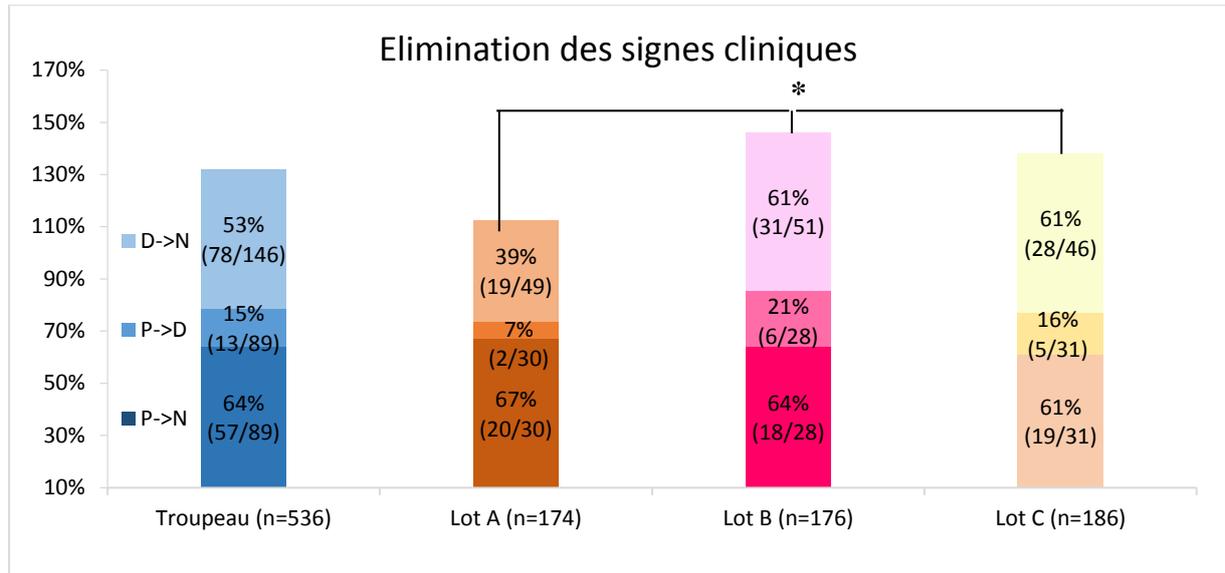


Figure 45 : Différents taux d'élimination des signes cliniques (critère 1).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,041$, entre le lot B et le lot C $p=0,63$, entre le lot A et le lot C $p=0,11$).

○ *Efficacité du traitement antibiotique*

Le taux d'élimination des signes cliniques entre les héli-mamelles traitées et non traitées (effectif très faible par construction) est présenté à la Figure 46. L'efficacité curative est de 66% pour les héli-mamelles traitées et de 56% pour les non traitées : la différence n'est pas significative ($p > 0,05$).

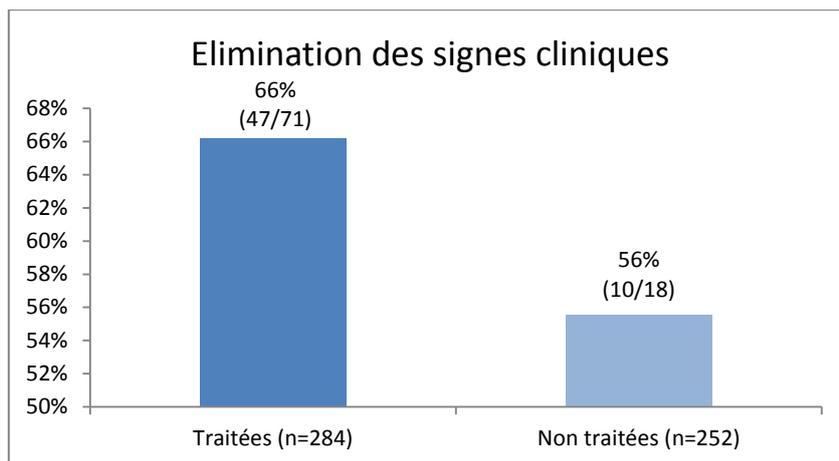


Figure 46 : Taux d'élimination stricte des signes cliniques entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 1).
(Khi-2 : p=0,40).

La Figure 47 illustre l'apparition de signes cliniques discrets (cf construction du critère 1) en ajoutant les « douteuses » qui deviennent « négatives » et les « positives » qui deviennent « douteuses ». On ne trouve pas de différence significative entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (p>0,1).

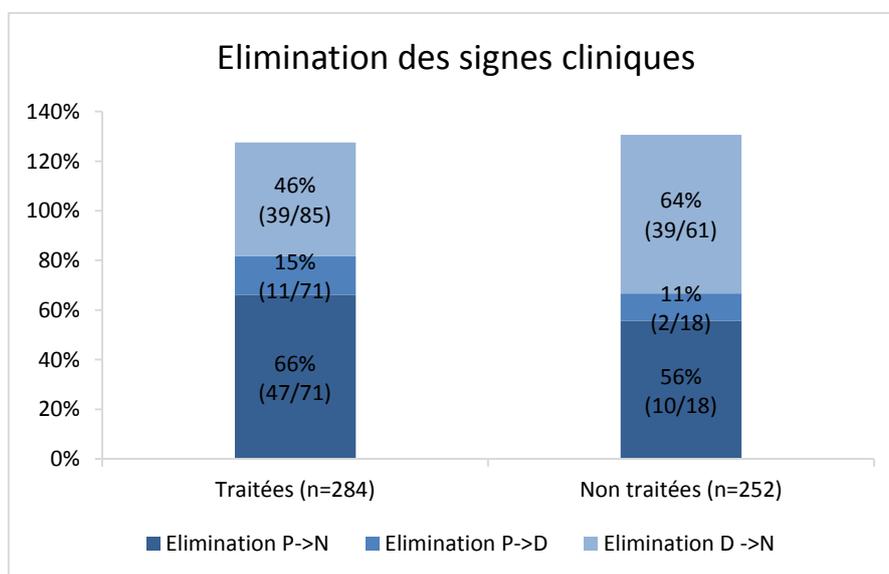


Figure 47 : Différents taux d'élimination des signes cliniques entre les hémi-mamelles traitées et non traitées (critère 1).
(Khi-2 : p=0,11).

c. Efficacité préventive (critère 1)

○ Comparaison des lots

Le taux de nouvelles mammites cliniques dans le troupeau est de 17% pour l'ensemble des brebis. Ce pourcentage va de 12% à 21% de façon croissante du lot A au lot C (Figure 48). La différence entre le lot A et lot B est significative au seuil de 0,01 ($p=0,069$).

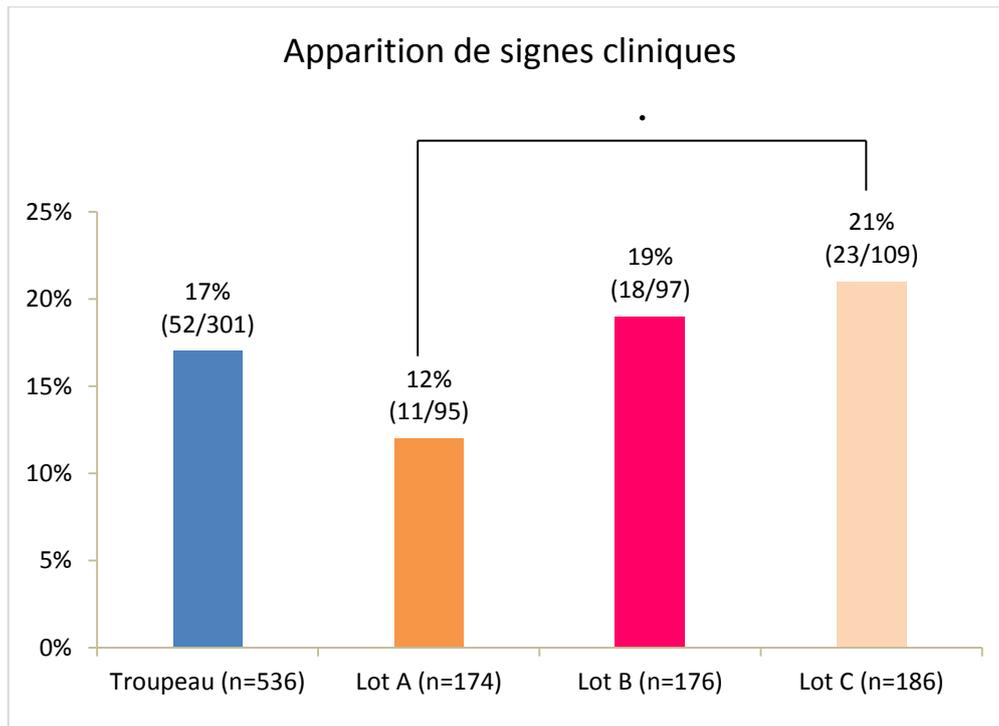


Figure 48 : Taux de nouvelles mammites cliniques (critère 1).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,17$; entre le lot B et le lot C $p=0,65$; entre le lot A et le lot C $p=0,069$).

La Figure 49 ajoute au taux de nouvelles mammites vu précédemment (Figure 48) les héli-mamelles « négatives » à la campagne N qui deviennent « douteuses » à la campagne N+1. En incluant les « douteuses » on ne retrouve plus de différence significative entre les lots ($p>0,1$).

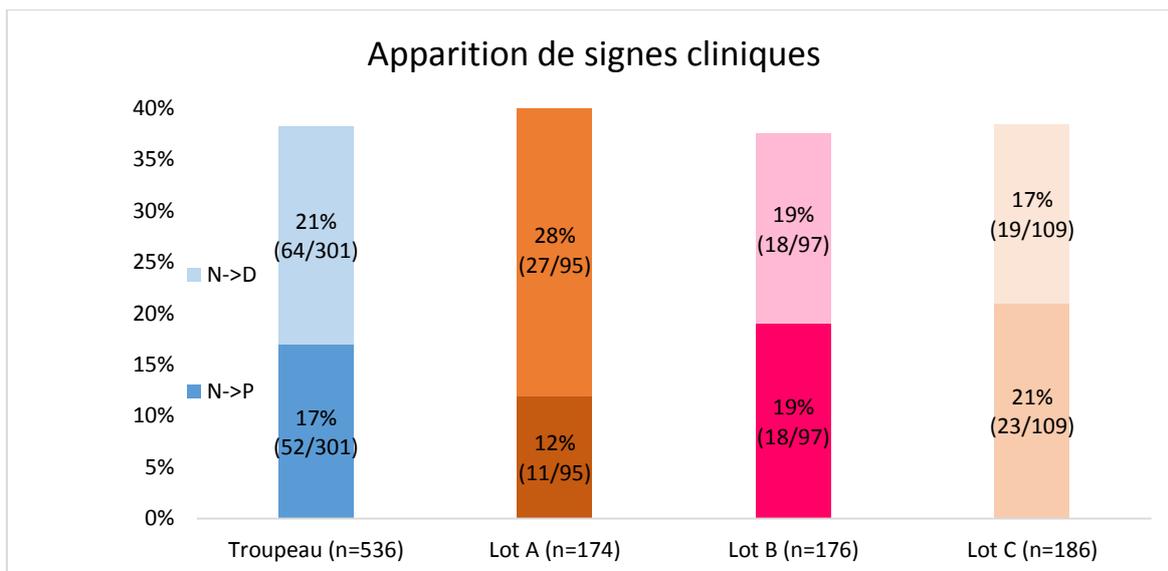


Figure 49 : Différents taux d'apparition de nouvelles mammites cliniques (critère 1).
 (Khi2 : entre le lot A et le lot B p=0,71, entre le lot B et le lot C p=0,85, entre le lot A et le lot C p=0,85).

○ *Efficacité du traitement antibiotique*

Nous pouvons observer que le taux de nouvelles mammites cliniques est plus faible parmi les héli-mamelles traitées (13%) que non traitées (21%). La différence est significative au seuil de 0,05 (p=0,050).

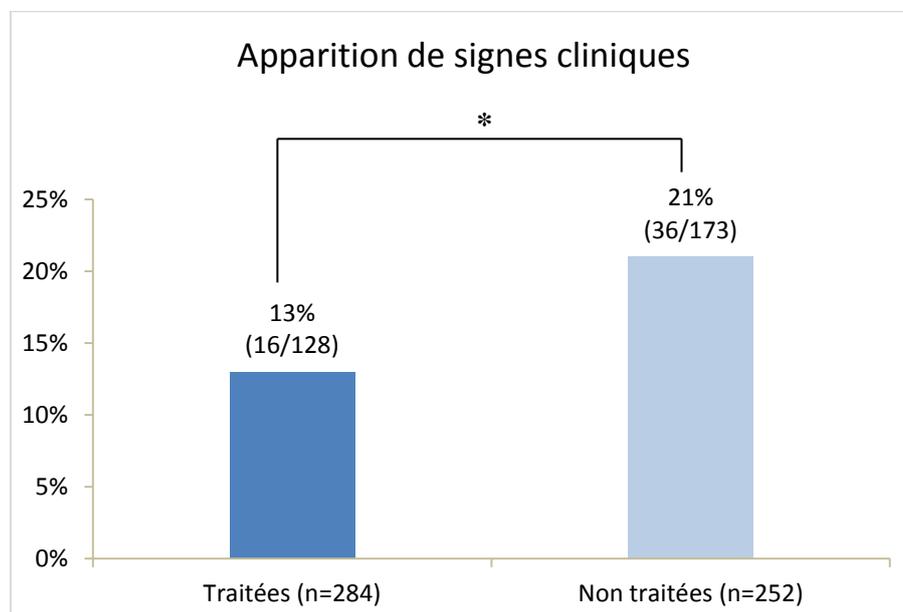


Figure 50 : Taux de nouvelles mammites cliniques entre les héli-mamelles traitées et non traitées (critère 1).
 (Khi-2 : p=0,050).

En incluant les « douteuses », il n'a pas significativement plus de nouvelles mammites cliniques pour les héli-mamelles non traitées ($p > 0,1$).

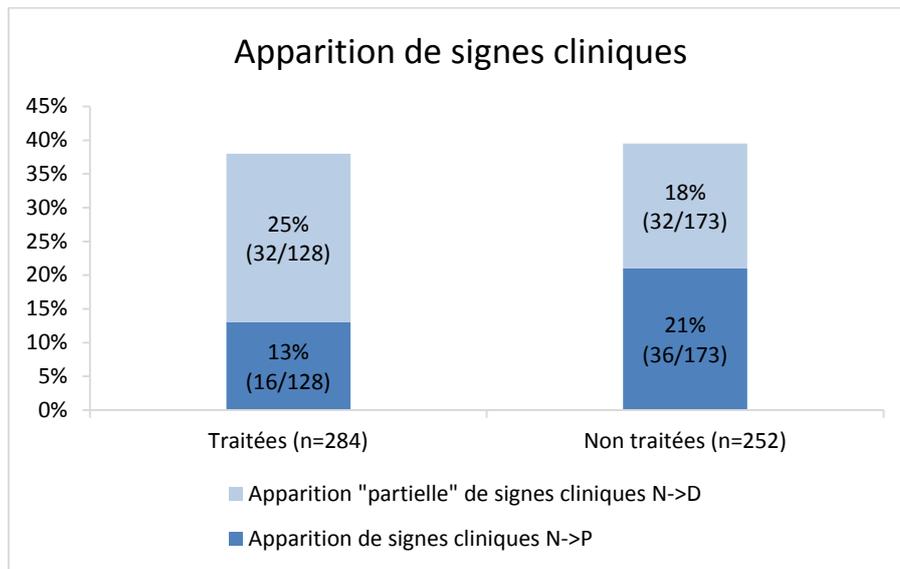


Figure 51 : Taux de nouvelles mammites cliniques entre les héli-mamelles traitées et non traitées (critère 1).
(Khi2 : $p=0,78$).

○ *Efficacité de l'antisepsie*

Pour chaque brebis incluse dans notre étude, un des trayons a reçu une antisepsie. La Figure 52 compare le pourcentage de nouvelles mammites entre les héli-mamelles qui ont reçu l'antisepsie et les autres. Le taux de nouvelles mammites est plus important pour les héli-mamelles n'ayant pas reçu l'antisepsie (19% contre 16%), mais les différences ne sont pas significatives ($p=0,56$).

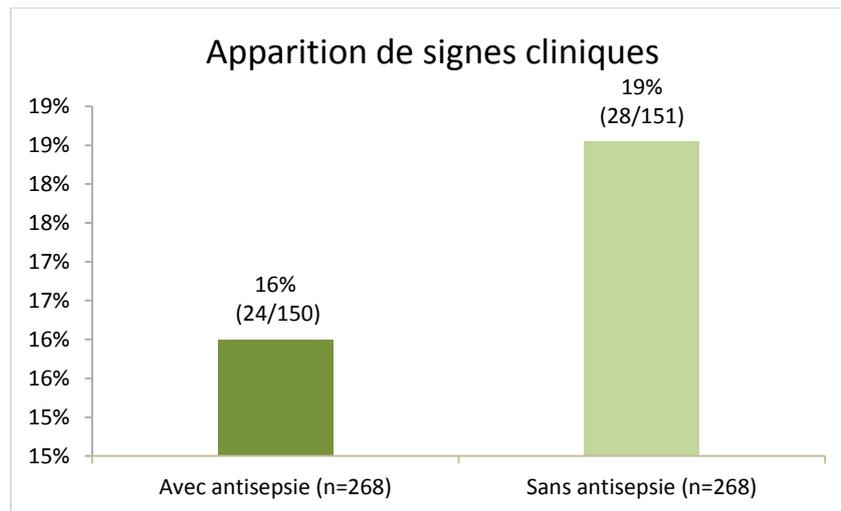


Figure 52 : Taux de nouvelles mammites cliniques en fonction de la pratique de l'antiseptique (critère 1).

(Khi-2 : $p=0,56$).

Si nous nous intéressons maintenant à l'interaction entre l'antiseptique et le traitement antibiotique intra-mammaire, nous pouvons former quatre groupes (Figure 53).

Parmi les héli-mamelles ayant reçu l'antibiothérapie, nous ne trouvons pas de différences significatives en fonction de l'antiseptique ($p=1,00$).

Parmi les héli-mamelles n'ayant pas reçu l'antibiothérapie, nous retrouvons un plus haut pourcentage de nouvelles mammites pour les héli-mamelles n'ayant pas reçu d'antiseptique : 19% contre 23%, mais les différences ne sont pas significatives ($p=0,48$).

Si nous nous intéressons à présent aux héli-mamelles ayant reçu l'antiseptique, nous trouvons 13% de nouvelles infections parmi les héli-mamelles traitées et 19% pour les non traitées. Il y a donc 6% de nouvelles infections en moins avec l'antiseptique. Cependant les différences ne sont pas significatives ($p=0,31$). Nous trouvons des résultats similaires parmi les héli-mamelles n'ayant pas reçu d'antiseptique (13% pour les traitées contre 23%, $p=0,10$).

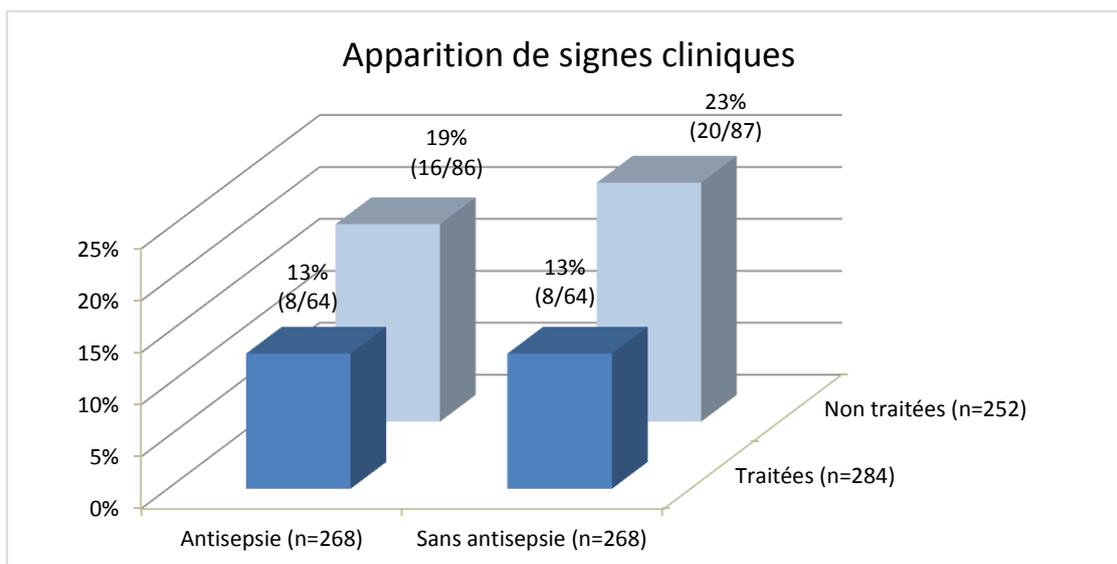


Figure 53 : Pourcentage de nouvelles mammites cliniques en fonction de l'antiseptique et du traitement intra-mammaire (critère 1).

(Khi-2 : pour les héli-mamelles traitées avec ou sans antiseptique $p=1,00$; pour les héli-mamelles non traitées avec ou sans antiseptique $p=0,48$; pour les héli-mamelles ayant reçu l'antiseptique traitées ou non traitées $p=0,31$; pour les héli-mamelles n'ayant pas reçu l'antiseptique traitées ou non traitées $p=0,10$).

Enfin, selon la date de la mise-bas, certaines héli-mamelles ont reçu plus de Io-shield[®] (mise bas tardive), et d'autres plus de Festadine[®], voire uniquement de la Festadine[®] (mise bas précoces). En comparant les pourcentages de nouvelles infections pour ces deux lots d'héli-mamelles, nous ne trouvons aucune différence significative entre nos deux produits d'antiseptique des trayons : 16% de nouvelles infections pour les héli-mamelles qui ont reçu plus de Festadine[®] et 17% pour celles qui ont reçu plus de Io-Shield[®] ($p=0,87$).

3. Efficacité laitière et cellulaire à l'échelle de la brebis (critères 2 et 3)

a. Evolution de la production laitière

Les moyennes de production laitière sont similaires d'un lot à l'autre, aussi bien pour la campagne N que pour la campagne N+1 (Figure 54).

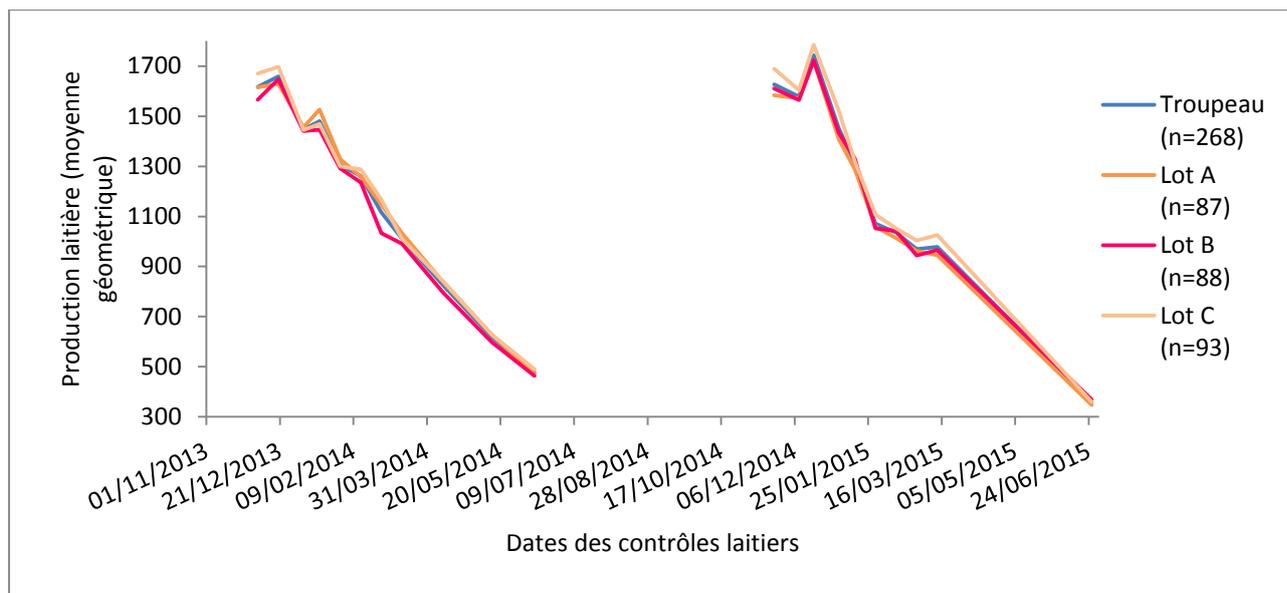


Figure 54 : Evolution des moyennes géométriques de production laitière pour les 3 lots en campagnes lactières N et N+1.

Pour la campagne N+1, aucune différence significative n'est identifiée entre les aires sous la courbe de production laitière des 3 lots ($p=0,97$) (Figure 55).

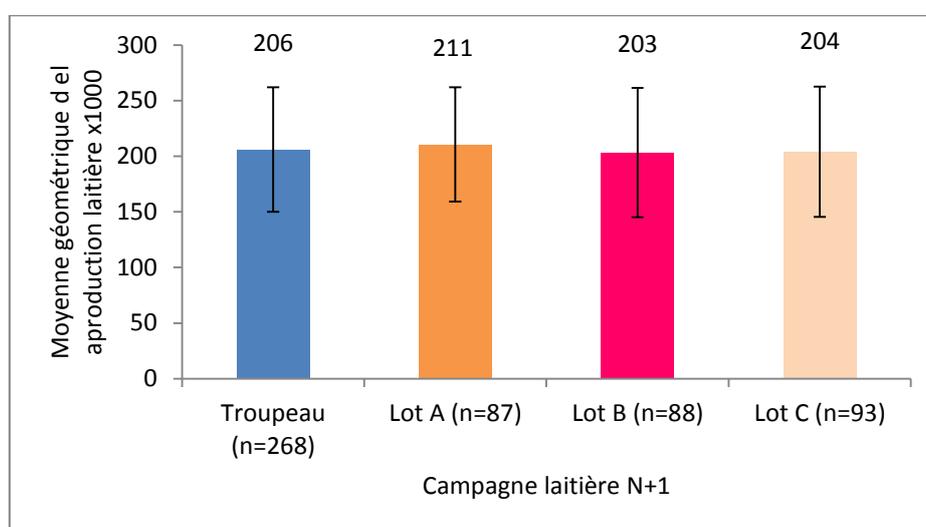


Figure 55 : Moyennes géométriques des aires sous la courbe de production laitière pour les 3 lots sur la campagne N+1.

(ANOVA : $p=0,97$).

Si nous comparons à présent les moyennes de production laitière entre les brebis traitées (au moins une des hémimamelles traitées) et non traitées (aucune hémimamelle

traitée), nous remarquons que les brebis n'ayant pas reçu d'antibiothérapie au tarissement ont une moyenne globalement plus élevée au cours de la campagne N+1 (Figure 56).

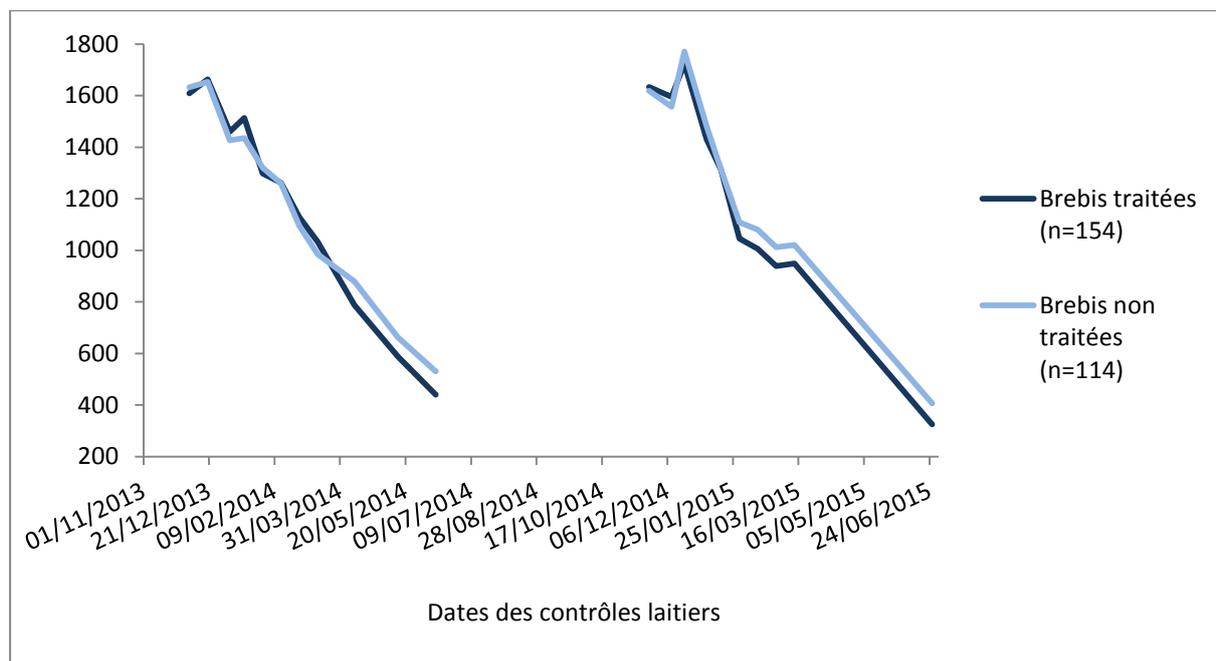


Figure 56 : Evolution des moyennes arithmétiques de production laitière pour les brebis traitées et non traitées sur les campagnes lactières N et N+1.

Ainsi, l'aire sous la courbe de la production laitière pour les brebis non traitées est de 208 000 contre 205 000 pour les brebis traitées. La différence n'est pas significative ($p=0,56$) (Figure 55).

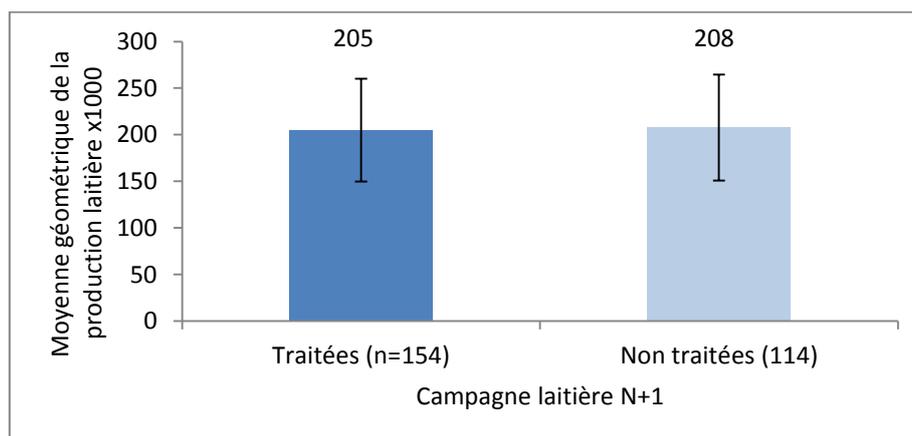


Figure 57: Moyennes géométriques des aires sous la courbe de production laitière pour les mamelles traitées et non traitées sur la campagne N+1.
(ANOVA : $p=0,56$).

b. Evolution des comptages cellulaires par mamelle

Nous avons comparé les moyennes géométriques des comptages cellulaires avant et après la période sèche. L'évolution est très similaire entre les 3 lots, comme le montre la Figure 58.

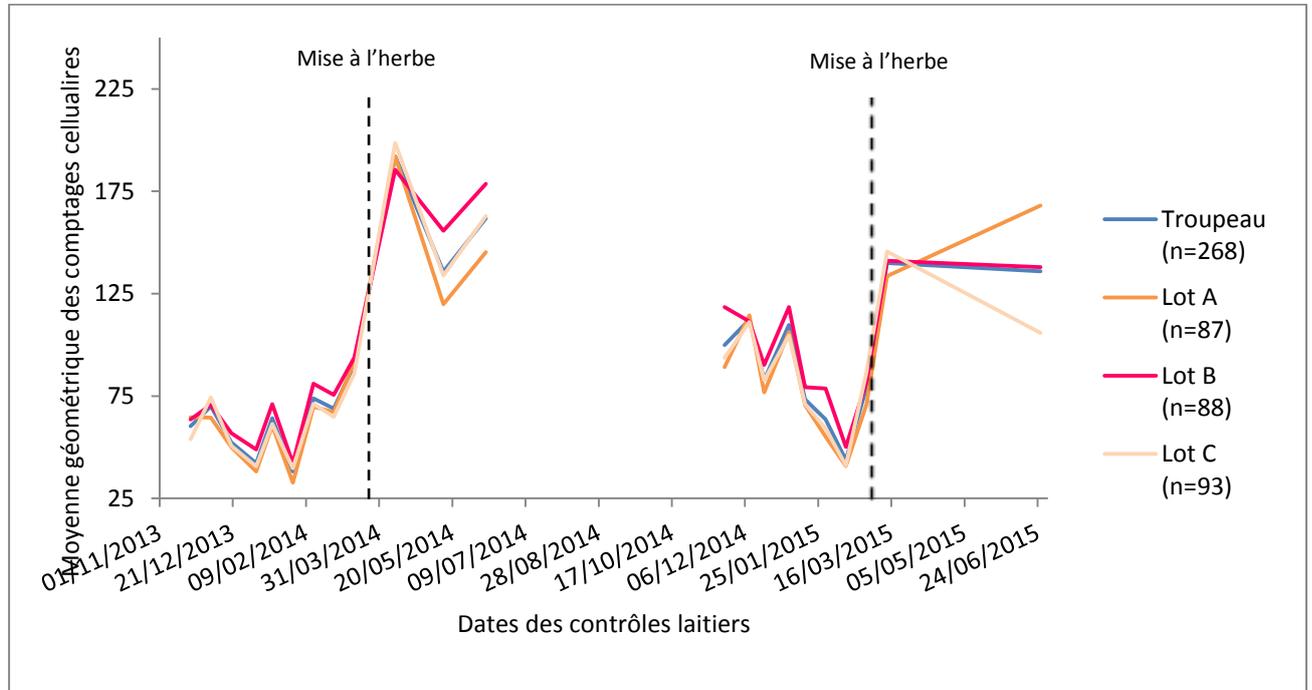


Figure 58 : Evolution des moyennes géométriques des comptages cellulaires entre la campagne N et N+1 et comparaison des lots.

Si nous considérons les aires sous la courbe des comptages cellulaires sur toute la campagne N+1, nous pouvons voir que le lot A présente la moyenne la plus faible tandis que le lot B a la moyenne la plus élevée (Figure 59). Aucune différence significative n'est cependant montrée entre les 3 lots ($p=0,95$).

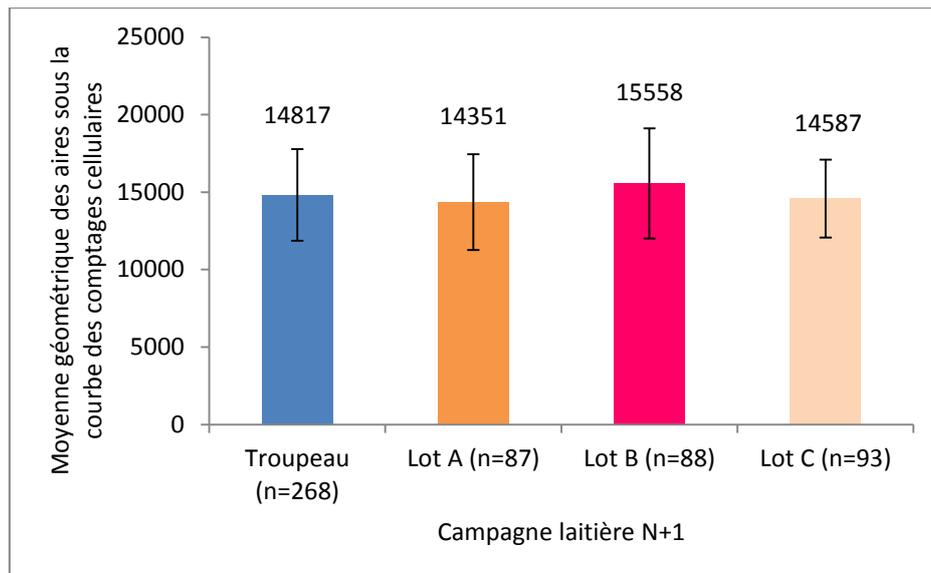


Figure 59: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires dans les 3 lots pour la campagne N+1.

(ANOVA : $p=0,95$ après transformation logarithmique).

Nous avons ensuite comparé les comptages cellulaires entre les brebis traitées (au moins une des hémimamelles est traitée) et les brebis non traitées (aucune hémimamelle n'est traitée). Lors de la campagne N, la moyenne géométrique des comptages cellulaires des brebis traitées est plus élevée que celles des brebis non traitées (et donc présumées « négatives » lors de la campagne N). La différence entre les deux groupes s'accroît au moment de la mise à l'herbe. Au début de la campagne N+1, la moyenne géométrique des comptages cellulaires est très similaire entre les deux. Au moment de la mise à l'herbe, la moyenne géométrique des brebis traitées devient plus élevée que celles des brebis non traitées.

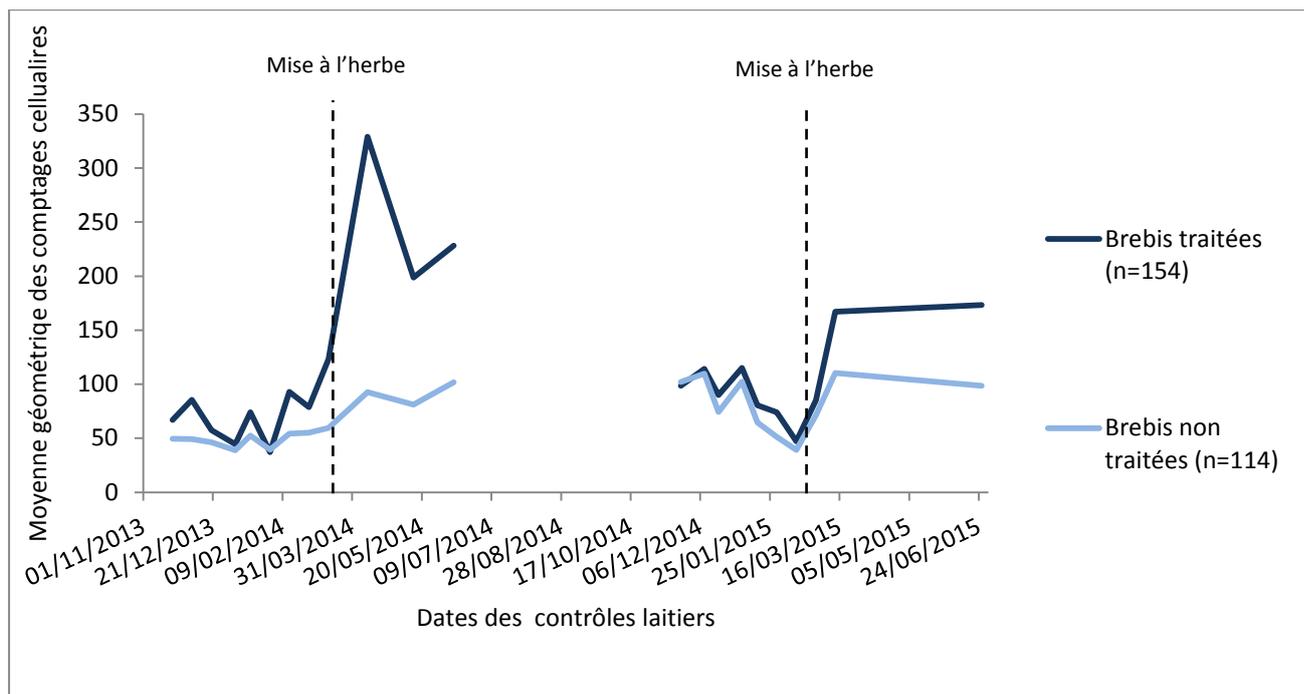


Figure 60 : Evolution des moyennes géométriques des comptages cellulaires entre la campagne N et N+1 chez les brebis traitées et non traitées.

En calculant les aires sous la courbe des comptages cellulaires, nous remarquons effectivement que les valeurs sont plus basses pour le groupe de brebis non traitées que pour le groupe de brebis traitées. Nous avons calculé les moyennes des aires sous la courbe pour les trois premiers contrôles laitiers de la campagne N+1 (Figure 61) et pour l'ensemble de la campagne N+1 (Figure 62). La différence entre les deux groupes est moins marquée en début de campagne laitière.

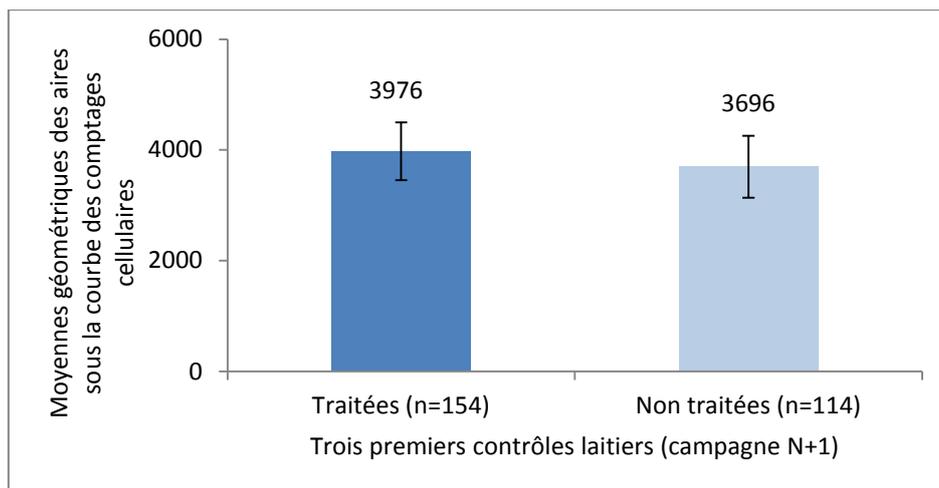


Figure 61: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires entre les mamelles traitées et non traitées pour les trois premiers contrôles laitiers de la campagne N+1.

(ANOVA : $p=0,56$ après transformation logarithmique).

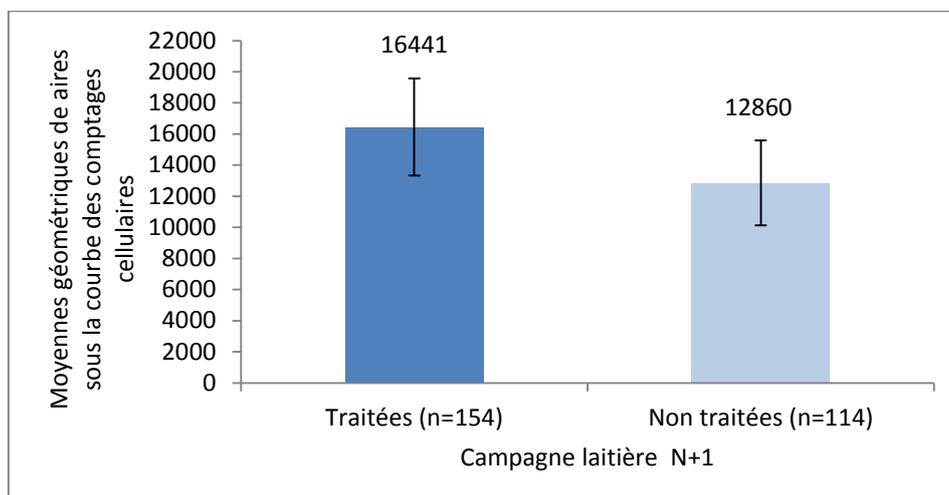


Figure 62: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires entre les mamelles traitées et non traitées pour la campagne N+1.

(ANOVA : $p=0,24$ après transformation logarithmique).

c. Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 2)

○ Comparaison des lots

Si nous examinons les brebis « positives » pour le critère 2 lors de la campagne laitière N, nous remarquons que 50% d'entre elles éliminent l'inflammation dans l'ensemble des lots (Figure 63). Ce pourcentage est plus élevé dans le lot B et dépasse les 70%, mais la différence

n'est pas significative ($p=0,45$). Les lots A et C ont des pourcentages plus faibles d'élimination de l'inflammation (respectivement de 38 et 40%). Si nous comparons la différence entre le lot B (71%) et le lot A (38%), les différences ne sont pas significatives ($p=0,22$). Les effectifs sont cependant limités.

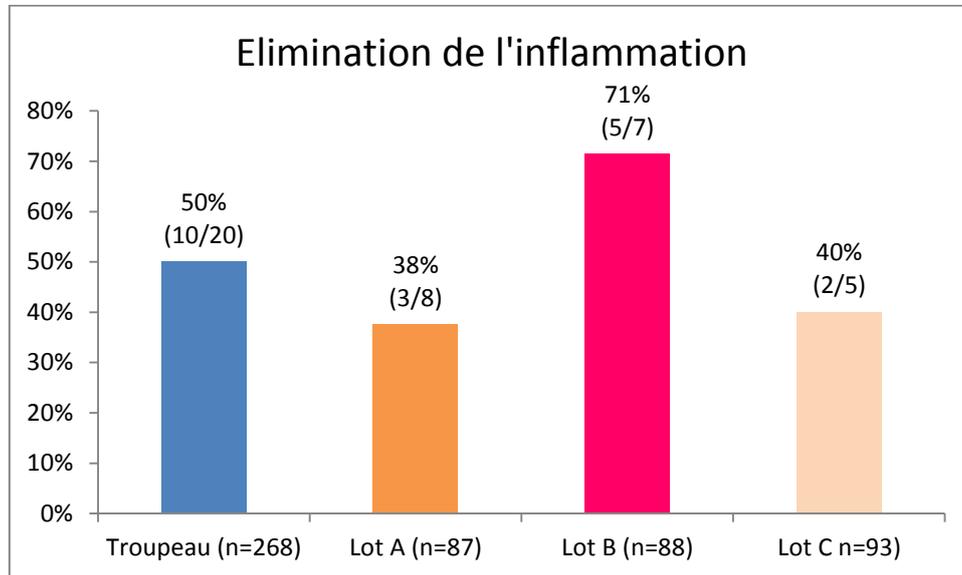


Figure 63: Taux d'élimination de l'inflammation (critère 2).

(Khi-2 de Yates : entre le lot A et le lot B $p=0,42$; entre le lot B et le lot C $p=0,62$; entre le lot A et le lot C $p=0,62$).

En incluant les « douteuses » pour mesurer l'élimination de l'inflammation, nous obtenons les résultats présentés à la Figure 64. Aucune différence significative ($p>0,1$).

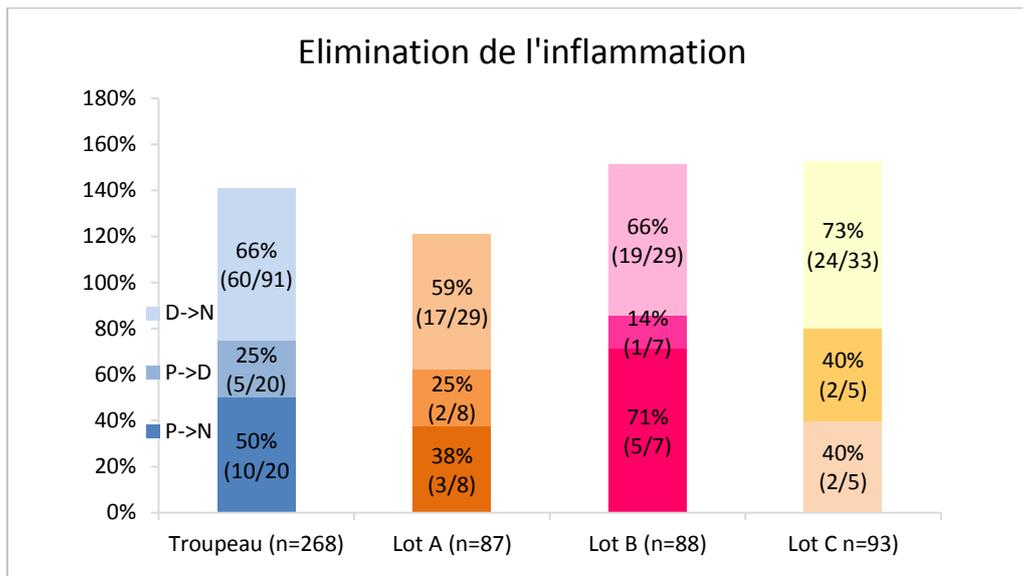


Figure 64 : Différents taux d'élimination de l'inflammation (critère 2).
 (Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,38$; entre le lot B et le lot C $p=0,51$; entre le lot A et le lot C $p=0,13$).

○ *Efficacité du traitement antibiotique*

Toutes les brebis « positives » en lactation N ayant été traitées, les pourcentages obtenus nous donnent une idée de l'efficacité curative du traitement antibiotique intramammaire, de l'ordre de 50% (effectifs faibles).

d. Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 3)

○ *Comparaison des lots*

Pour rappel, le critère 3 classe les brebis sur la base des comptages cellulaires par mamelle, comme le critère 2, mais prend de plus en compte les résultats par hémimamelles. La même tendance que pour le critère 2 est retrouvée, avec un taux d'élimination de l'inflammation plus élevé pour le lot B (50%), le lot C (30%) et le lot A (25%). Les taux d'élimination sont globalement plus faibles que pour le critère 2. Aucune différence significative n'est retrouvée entre les lots ($p>0,1$) (Figure 65).

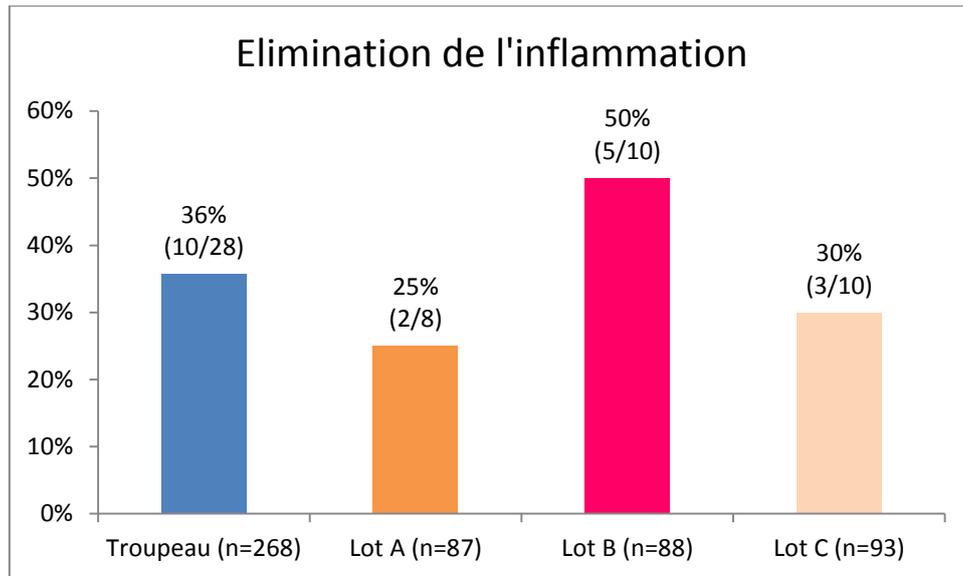


Figure 65: Taux d'élimination de l'inflammation (critère 3).

(Khi-2 de Yates : entre le lot A et le lot B $p=0,55$; entre le lot B et le lot C $p=0,65$; entre le lot A et le lot C $p=0,76$).

○ *Efficacité du traitement antibiotique*

Toutes les brebis « positives » en lactation N ayant été traitées, les pourcentages obtenus nous donnent une idée de l'efficacité curative du traitement antibiotique intramammaire, de l'ordre de 36% (contre 50% pour le critère 2).

e. Efficacité préventive de l'antibiothérapie (critère 2)

○ *Comparaison des lots*

En prenant en compte les statuts définis pour le critère 2, le taux de nouvelles inflammations dans l'ensemble des lots est égal à 10%. Les pourcentages retrouvés dans cet ensemble et dans chacun des lots sont très proches ; aucune différence significative n'est retrouvée ($p>0,1$) (Figure 66).

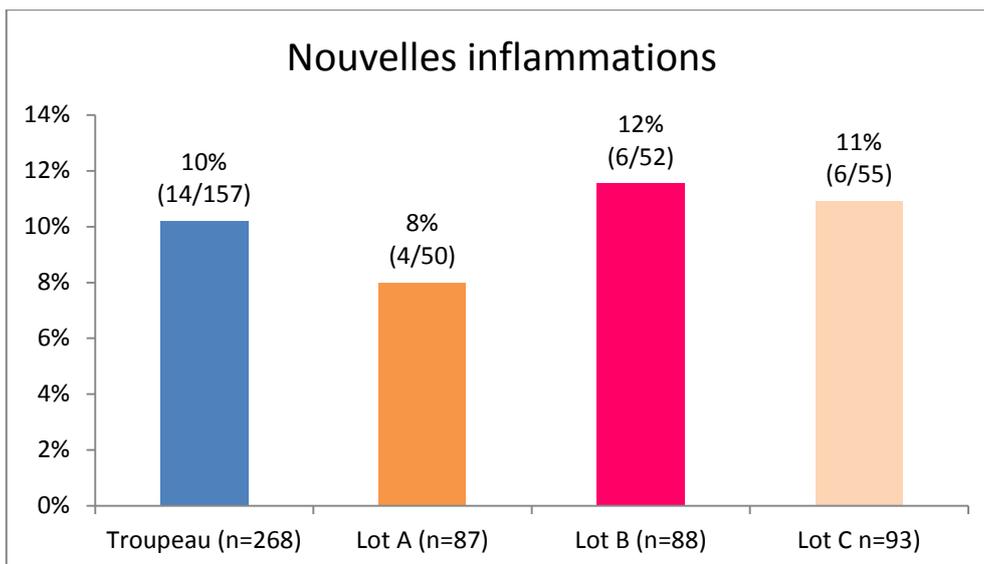


Figure 66: Taux de nouvelles inflammations (critère 2).

(Khi-2 de Yates : entre le lot A et le lot B $p=0,79$.)

Khi-2 : entre le lot B et le lot C $p=0,92$; entre le lot A et le lot C $p=0,61$).

En prenant en considération les mamelles « négatives » à N qui deviennent « douteuses » à la mise bas, nous obtenons les résultats de la Figure 67. Il n'y a pas de différence significative entre les lots ($p>0,1$).

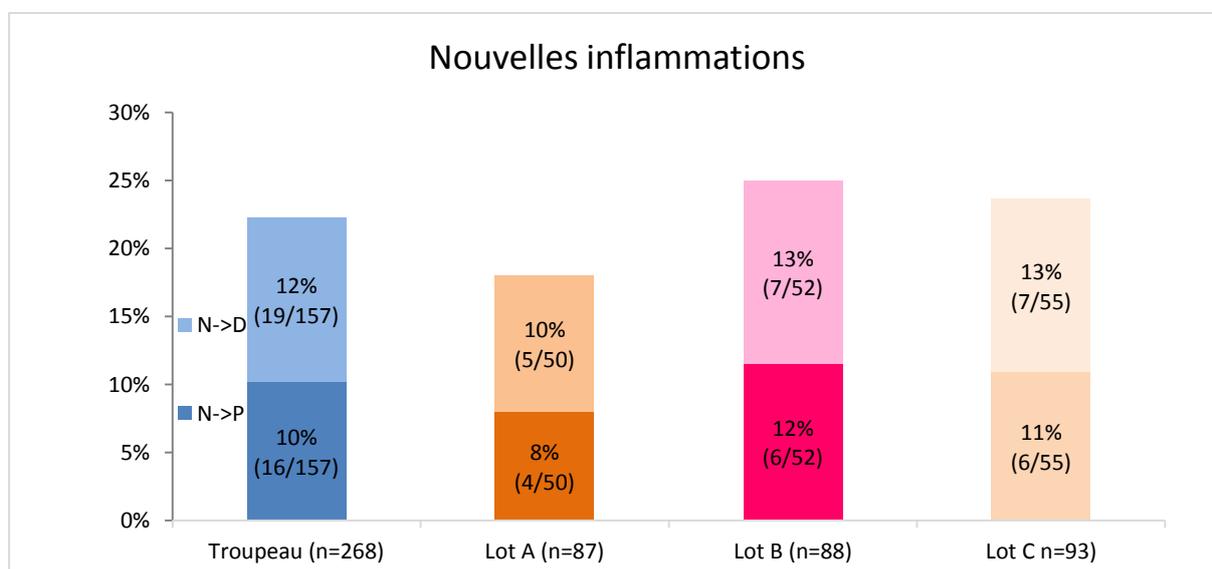


Figure 67 : Différents taux de nouvelles inflammations (critère 2).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,42$, entre le lot B et le lot C $p=0,88$, entre le lot A et le lot C $p=0,51$).

○ *Efficacité du traitement antibiotique*

Parmi ces brebis négatives en lactation N, certaines ont été traitées (dans le lot A), alors que celles des lots B et C n'ont reçu aucun traitement. Le taux de nouvelles inflammations est plus faible parmi les brebis traitées (7%) que pour les brebis non traitées (12%). Néanmoins, la différence entre les deux n'est pas significative ($p=0,34$) (Figure 68).

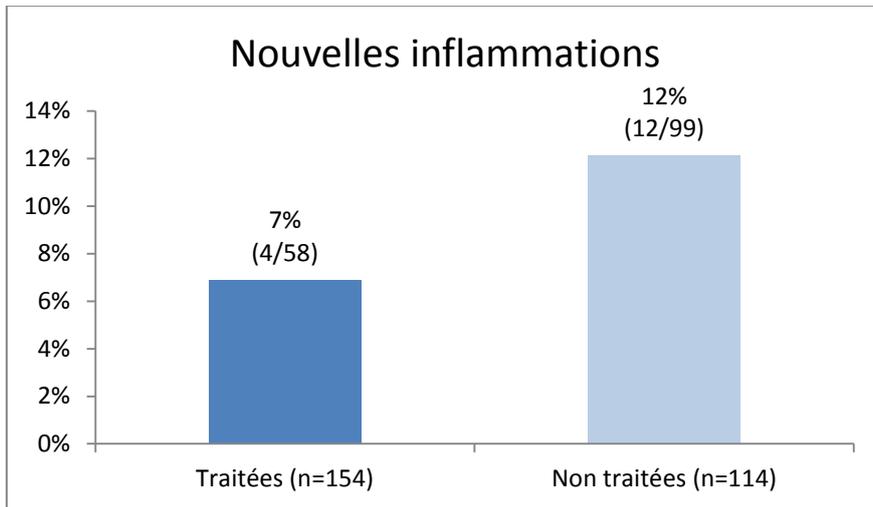


Figure 68 : Taux de nouvelles inflammations entre les mamelles traitées et non traitées (critère 2).

(Khi-2 de Yates : $p=0,43$).

De même il n'y a pas de différence significative en élargissant nos calculs avec les douteuses ($p>0,1$) (Figure 69).

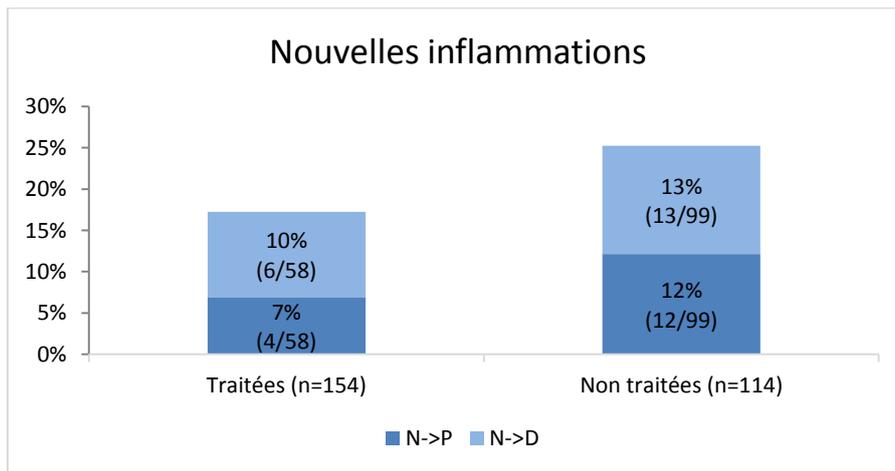


Figure 69 : Différents taux de nouvelles inflammations entre les mamelles traitées et non traitées (critère 2).

(Khi-2 : $p=0,28$).

f. Efficacité préventive de l'antibiothérapie (critère 3)

○ Comparaison des lots

Nous pouvons comparer les résultats du critère 2 avec ceux du critère 3. La même tendance est retrouvée dans les deux cas, avec un taux de nouvelles inflammations plus faible dans le lot A que pour les deux autres lots (Figure 70). Les différences sont néanmoins plus marquées pour le critère 3 que pour le critère 2, avec un taux de nouvelles infections très bas pour le lot A (2%). Les différences entre les lots ne sont cependant pas significatives ($p > 0,1$).

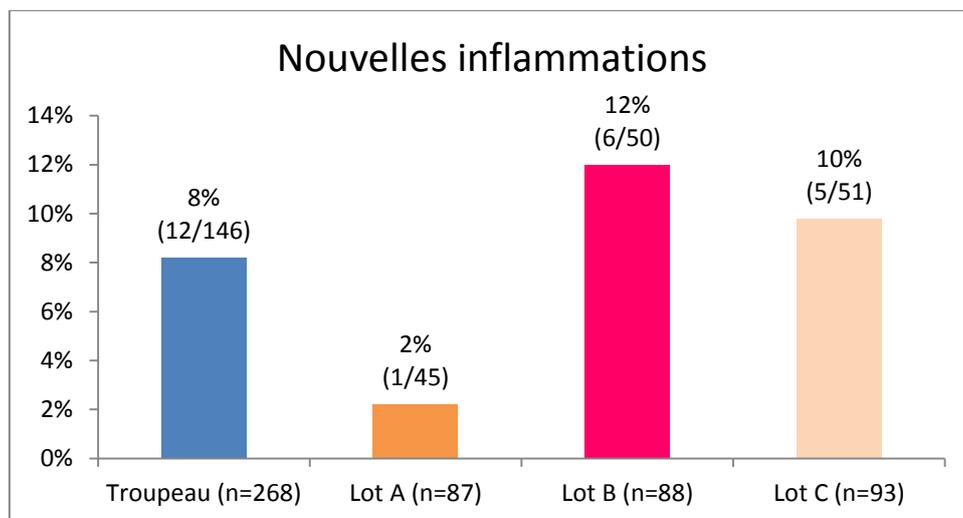


Figure 70: Taux de nouvelles inflammations (critère 3).

(Khi-2 de Yates : entre le lot A et le lot B $p=0,15$; entre le lot B et le lot C $p=0,97$; entre le lot A et le lot C $p=0,26$).

○ Efficacité du traitement antibiotique

Le taux de nouvelles inflammations est plus faible parmi les brebis traitées (2%) que non traitées (11%). La différence entre les deux groupes est plus marquée que pour le critère 2 et est significative au seuil de 0,1 (Figure 71).

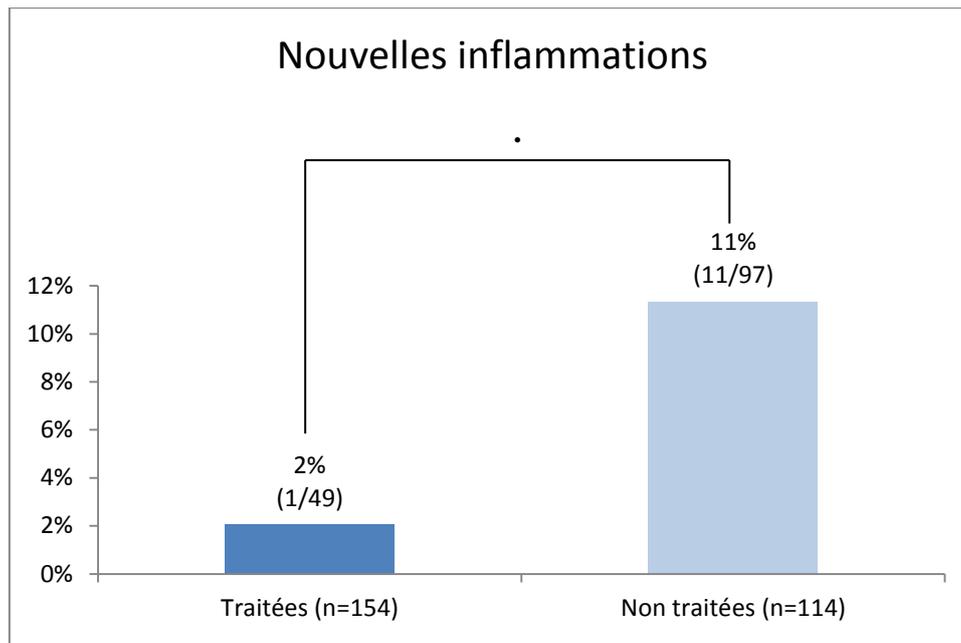


Figure 71 : Taux de nouvelles inflammations entre les héli-mamelles traitées et non traitées (critère 3).
(Khi-2 de Yates : $p=0,096$).

4. Efficacité cellulaire à l'échelle de l'héli-mamelle (critère 4)

a. Evolution des comptages cellulaires par héli-mamelle

Nous avons également comparé les aires sous la courbe des comptages cellulaires par héli-mamelle pour la campagne N+1 (soit à J₄, J₁₀ et J₄₀) entre les 3 lots. Nous retrouvons la même tendance que pour les comptages cellulaires par mamelle : le lot A présente la moyenne la plus faible et le lot C la moyenne la plus élevée. Aucune différence significative n'est retrouvée ($p>0,1$) (Figure 72).

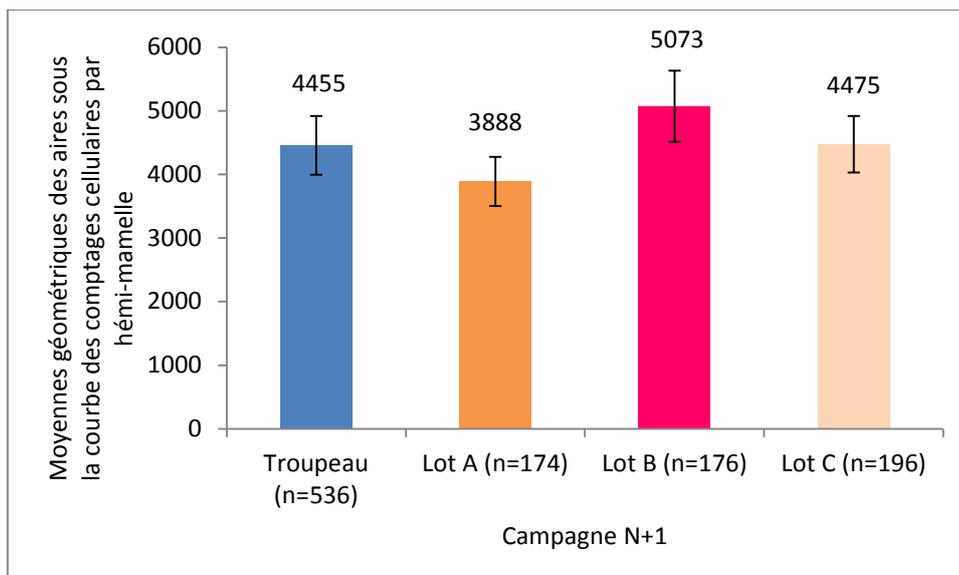


Figure 72: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires par héli-mamelle dans les 3 lots pour la campagne N+1.

(ANOVA : $p=0,27$ après transformation logarithmique).

Nous avons ensuite comparé les aires sous la courbe des héli-mamelles traitées et non traitées. La moyenne des aires sous la courbe est légèrement plus élevée pour les héli-mamelles non traitées que pour les héli-mamelles traitées, ce qui est opposé aux résultats obtenus par mamelle.

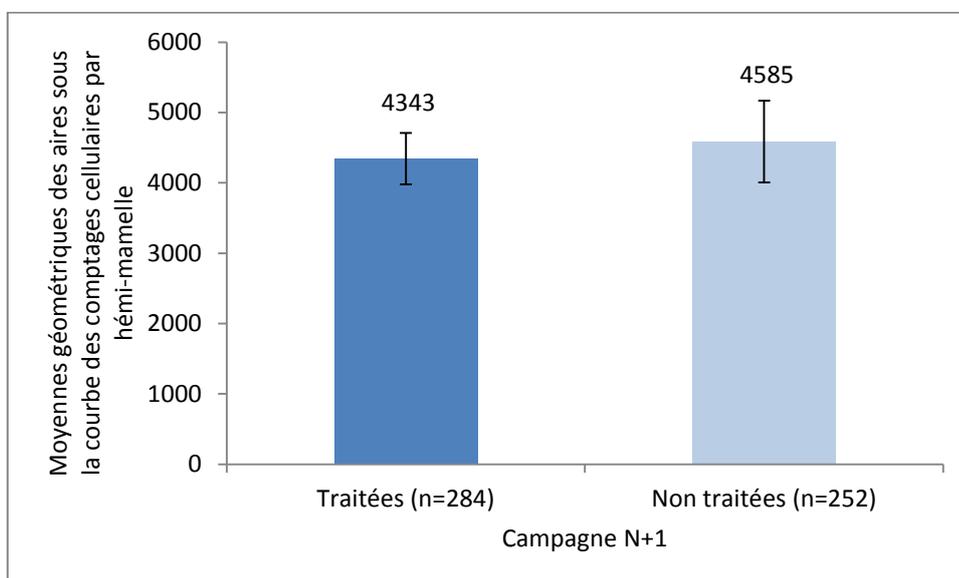


Figure 73: Moyennes géométriques des aires sous la courbe des comptages cellulaires par héli-mamelle entre les héli-mamelles traitées et non traitées pour la campagne N+1.

(ANOVA : $p=0,68$ après transformation logarithmique).

b. Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 4)

○ Comparaison des lots

Au sein des héli-mamelles « positives » au tarissement, nous pouvons observer que 73% ont éliminé l'inflammation. Ce pourcentage est plus élevé pour le lot C (91%) que pour les lots A et B (respectivement 71% et 63%). Les différences ne sont pas significatives (Figure 74).

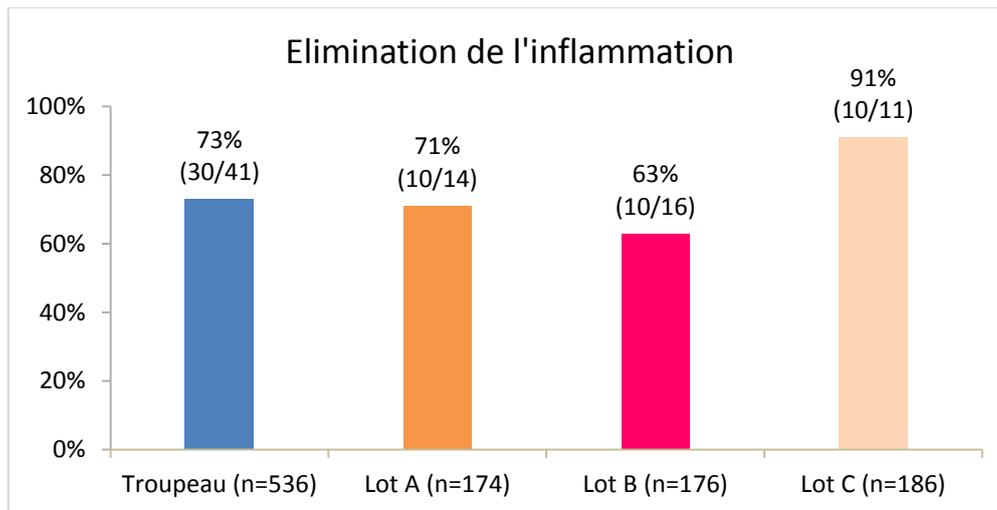


Figure 74 : Taux d'élimination de l'inflammation (critère 4).

(Khi-2 de Yates : entre le lot A et le lot B $p=0,89$; entre le lot B et le lot C $p=0,21$; entre le lot A et le lot C $p=0,46$).

En prenant en considération, comme pour les critères 1 et 2, l'élimination « partielle » de l'inflammation, on retrouve sur la Figure 75 les résultats obtenus ; aucune différence significative n'est obtenue entre les lots ($p>0,1$).

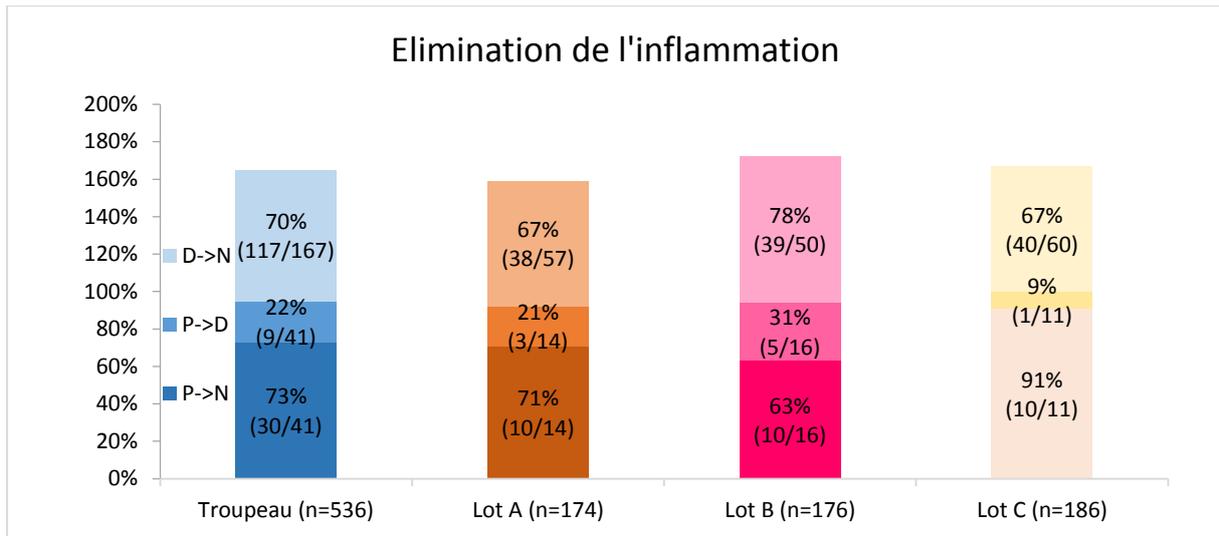


Figure 75 : Différents taux d'élimination de l'inflammation (critère 4).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,43$, entre le lot B et le lot C $p=0,63$, entre le lot A et le lot C $p=0,77$).

○ *Efficacité du traitement antibiotique*

Selon ce critère, 14 héli-mamelles « positives » n'ont pas reçu de traitement antibiotique intra-mammaire : 7 dans le lot B et 7 dans le lot C. Pour évaluer l'efficacité du traitement nous avons comparé l'élimination de l'inflammation parmi les héli-mamelles traitées et non traitées. Le taux d'élimination de l'inflammation est légèrement plus faible pour les héli-mamelles traitées (70%) que les non traitées (79%). Néanmoins les différences ne sont pas significatives au seuil de 0,05 (Figure 76).

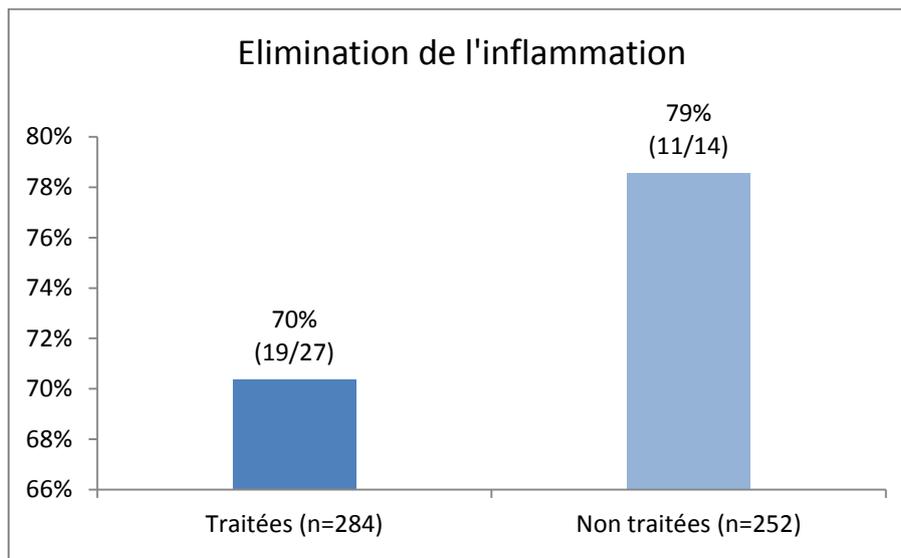


Figure 76 : Taux d'élimination de l'inflammation entre les hémimamelles traitées et non traitées (critère 4).
(Khi-2 de Yates : $p = 0,85$).

La comparaison à l'échelle du troupeau de l'élimination « partielle » ne montre aucune différence significative entre les hémimamelles traitées et non traitées ($p > 0,1$).

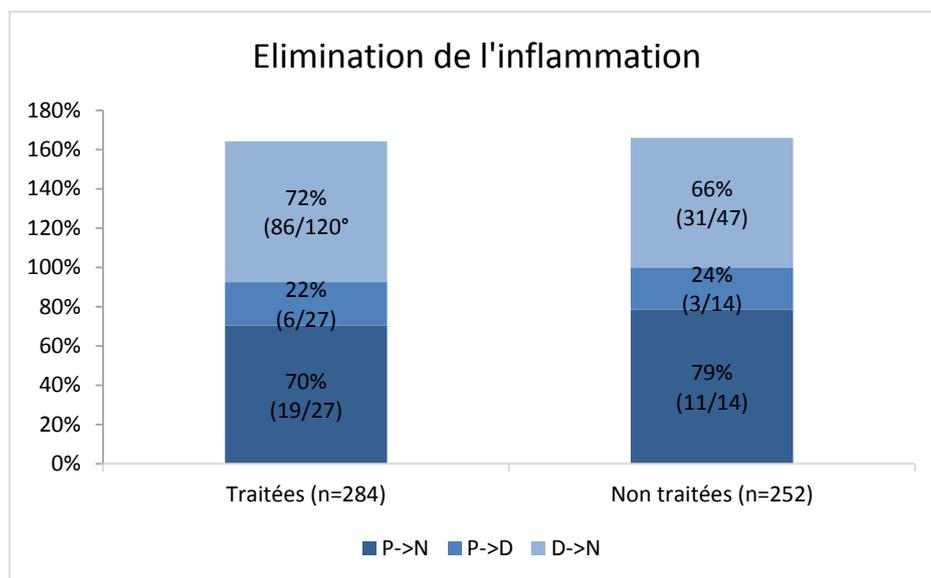


Figure 77 : Différents taux d'élimination de l'inflammation entre les hémimamelles traitées et non traitées (critère 4).
(Khi-2 : $p = 0,57$).

c. Efficacité préventive (critère 4)

○ Comparaison des lots

Si nous nous intéressons à présent aux héli-mamelles « négatives » lors de la campagne N, nous pouvons observer que 11% de celles-ci se sont positivées (Figure 78). Dans le lot A, le pourcentage de nouvelles infections est plus faible (7%) que dans les lots B et C (respectivement 12% et 13%) ; les différences entre nos trois lots ne sont pas significatives au seuil de 0,05 ($p > 0,1$).

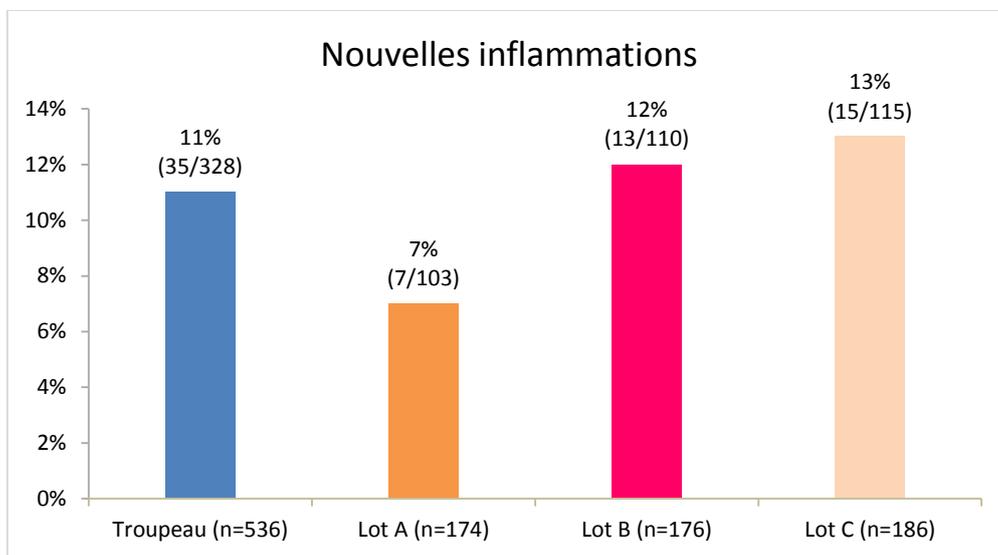


Figure 78 : Taux de nouvelles inflammations (critère 4).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,21$; entre le lot B et le lot C $p=0,78$; entre le lot A et le lot C $p=0,13$).

En considérant le taux de nouvelles inflammations « partielles », on observe sur la Figure 79 plus de nouvelles inflammations pour les lots B et C que le lot A ; seule la différence entre le lot A et le lot B est significative ($p=0,034$). Dans le lot B, beaucoup de « négatives » deviennent « douteuses » (N->D).

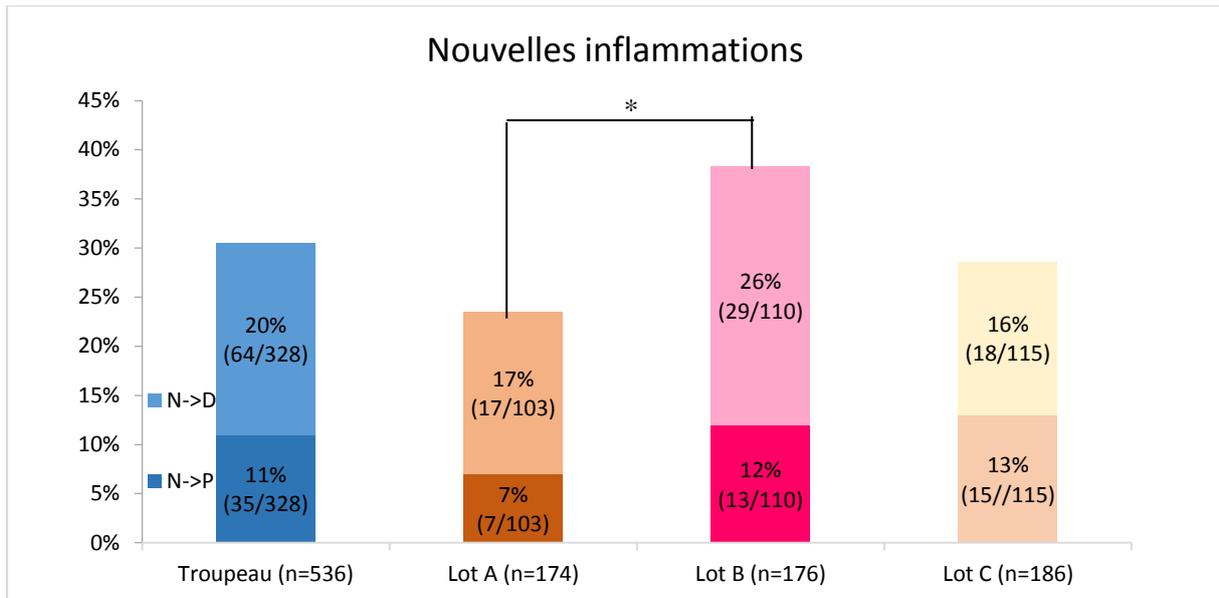


Figure 79 : Différents taux de nouvelles inflammations (critère 4).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,034$, entre le lot B et le lot C $p=0,18$, entre le lot A et le lot C $p=0,40$).

○ *Efficacité du traitement antibiotique*

Les héli-mamelles traitées ont un taux de nouvelles infections de 7% contre 13% pour les non traitées (Figure 80). Cependant les différences observées ne sont pas significatives ($p=0,19$).

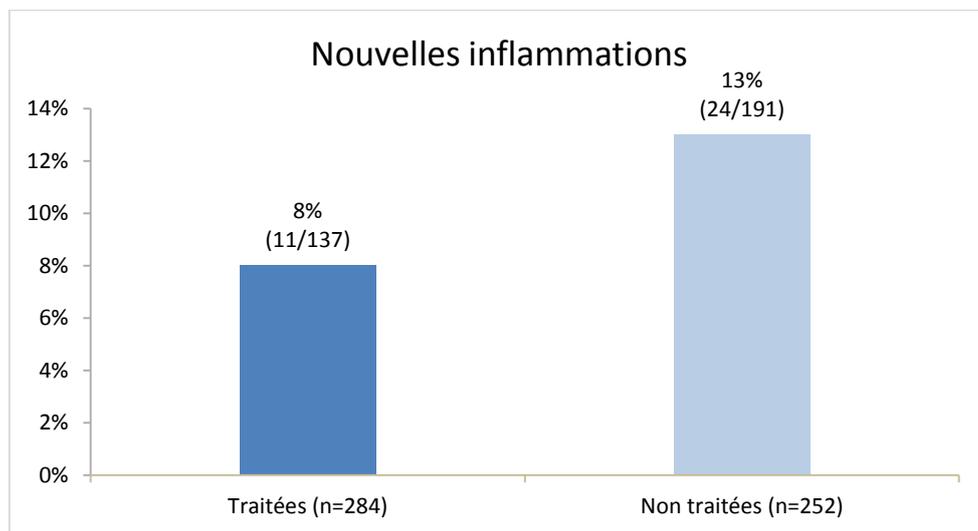


Figure 80 : Taux de nouvelles inflammations entre les héli-mamelles traitées et non traitées (critère 4).

(Khi-2: $p = 0,19$).

La comparaison de nouvelles inflammations « partielles » entre les héli-mamelles traitées et non traitées montrent un effet préventif de l'antibiothérapie intra-mammaire (moins de nouvelles inflammations sur les traitées). Cette différence est significative au seuil de 0,1 ($p=0,1$) (Figure 81).

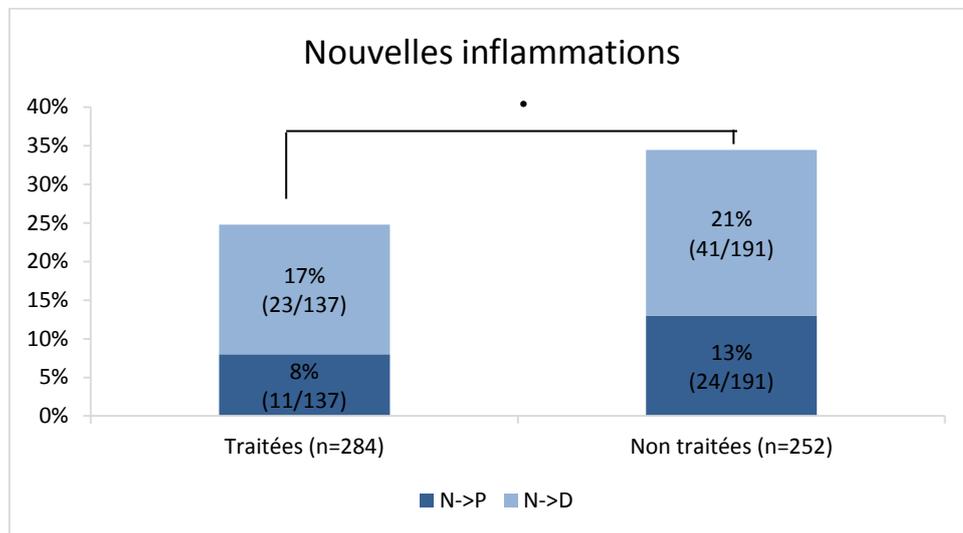


Figure 81 : Différents taux de nouvelles inflammations entre les héli-mamelles traitées et non traitées (critère 4).
(Khi-2 : $p=0,10$).

○ *Efficacité de l'antisepsie*

Avec ou sans antisepsie, le taux de nouvelles infections est de 11%. (Figure 82).

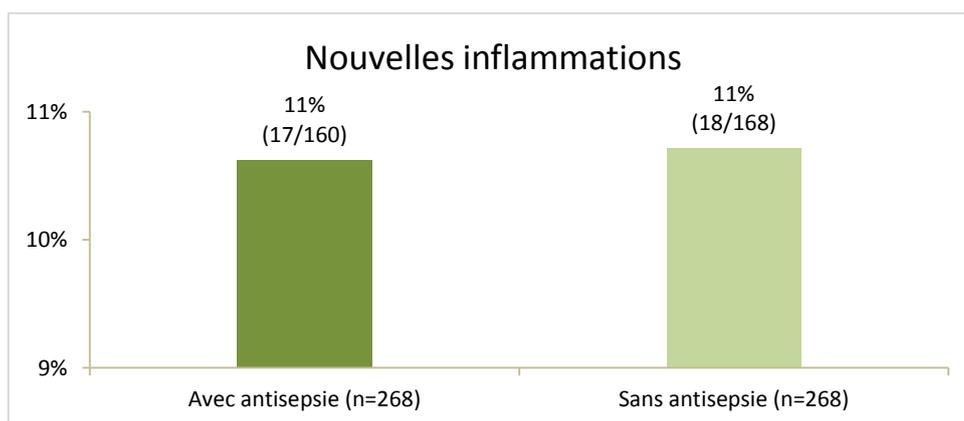


Figure 82 : Taux de nouvelles infections inflammations entre les héli-mamelles qui ont reçu l'antisepsie et les autres (critère 4).
(Khi-2: $p = 0,98$).

En étudiant l'interaction entre le traitement antibiotique et l'antisepsie, de la même manière que pour les critères précédents, nous trouvons les résultats illustrés sur la Figure 83. Il n'y a pas de différence significative entre les hémis-mamelles ayant reçu l'antisepsie et les autres, pour les hémis-mamelles traitées comme pour celles non traitées ($p>0,1$).

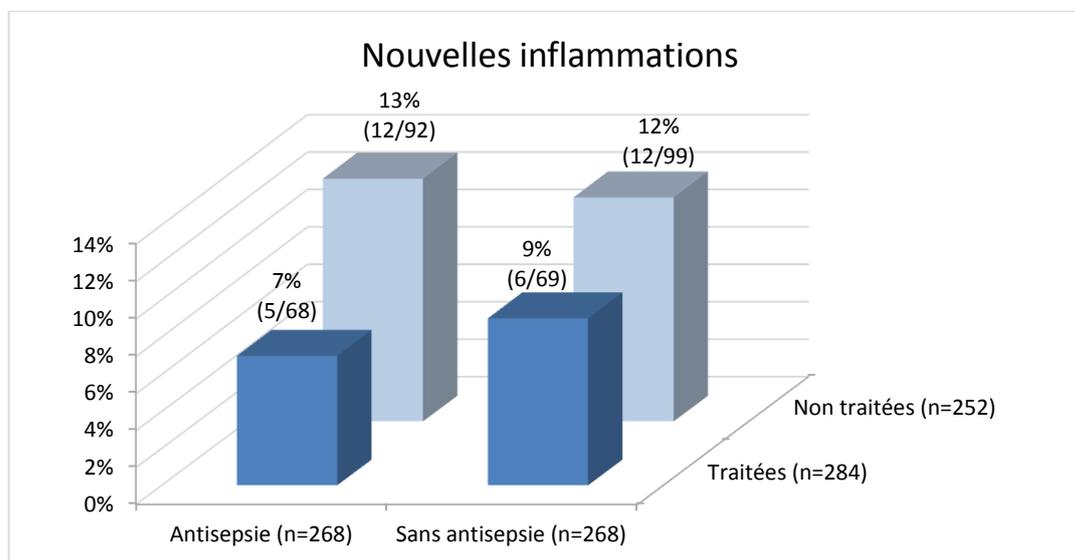


Figure 83 : Taux de nouvelles inflammations en fonction de l'antisepsie et du traitement intra-mammaire (critère 4).

(Khi-2 : pour les hémis-mamelles traitées avec ou sans antisepsie $p=0,77$; pour les hémis-mamelles non traitées avec ou sans antisepsie $p=0,85$; pour les hémis-mamelles ayant reçu l'antisepsie traitées ou non traitées $p=0,25$; pour les hémis-mamelles n'ayant pas reçu l'antisepsie traitées ou non traitées $p=0,48$).

Enfin, si nous comparons l'efficacité des deux spécialités, nous obtenons 10% de nouvelles infections avec la Festadine[®] et 11% avec le Io-shield[®] : aucune différence n'est significative au seuil de 0,05 ($p=0,84$).

5. Efficacité clinico-cellulaire par hémis-mamelle (critère 5)

a. Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 5)

o Comparaison des lots

Parmi les hémis-mamelles « positives » au tarissement, pour ce critère combinant les résultats cliniques et cellulaires, nous obtenons une valeur de 71% d'élimination pour l'ensemble des animaux, 67% pour lot A, 74% pour le lot B et 72% pour le lot C. Les lots B

et C, contrairement au critère 4, présentent donc un meilleur taux d'élimination. Néanmoins les différences entre nos trois lots ne sont pas significatives (Figure 84).

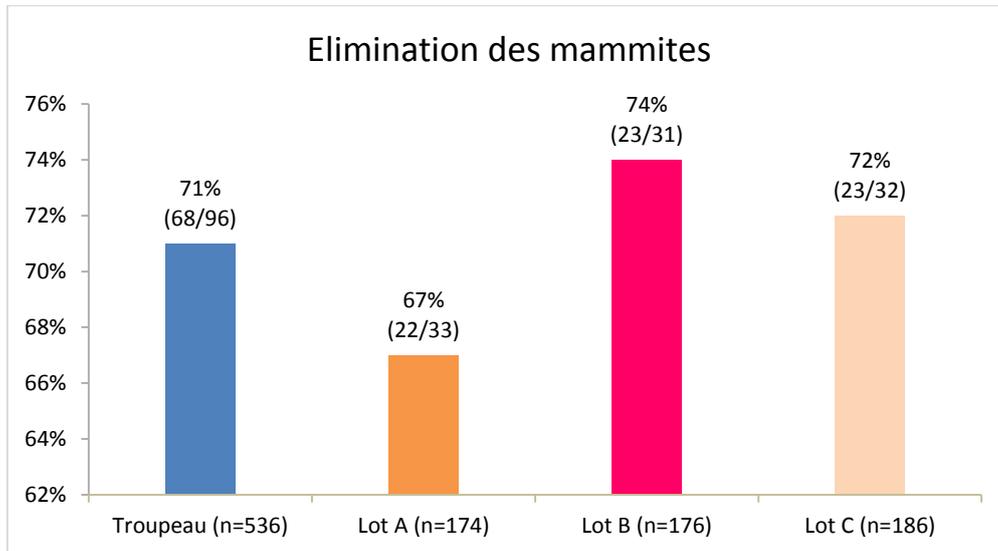


Figure 84 : Taux d'élimination des mammites (critère 5).

(Khi-2: entre le lot A et le lot B $p=0,51$; entre le lot B et le lot C $p=0,86$; entre le lot A et le lot C $p=0,65$).

○ *Efficacité du traitement antibiotique*

Pour ce critère, 22 héli-mamelles « positives » n'ont pas été traitées : 7 dans le lot B et 15 dans le lot C. Si nous comparons l'élimination de l'inflammation entre les traitées et les non traitées, nous obtenons un taux plus élevé pour les héli-mamelles traitées : 73% contre 64%. Cependant les différences ne sont pas significatives au seuil de 0,05 ($p=0,21$).

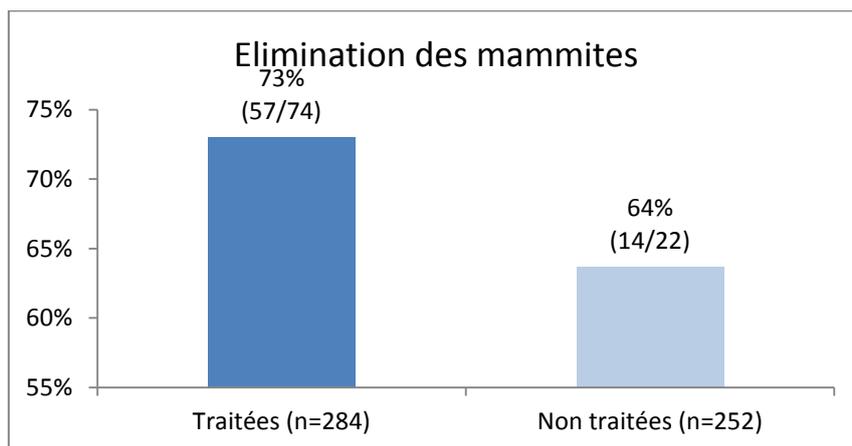


Figure 85 : Taux d'élimination des mammites entre les héli-mamelles traitées et non traitées (critère 5).

(Khi-2 : $p=0,21$).

b. Efficacité préventive (critère 5)

○ Comparaison des lots

En ce qui concerne l'apparition de mammites pour les héli-mamelles « négatives » au tarissement, un taux global de 16% a été obtenu (Figure 86). Dans le lot A, le taux de nouvelles mammites est plus faible (9%) que dans les lots B et C (19% et 18%). Les différences entre le lot A et les lots B et C sont significatives au seuil de 0,05 (respectivement $p=0,029$ et $p=0,041$). Il y a donc avec ce critère une efficacité préventive plus importante pour le lot A où les héli-mamelles « négatives » sont traitées.

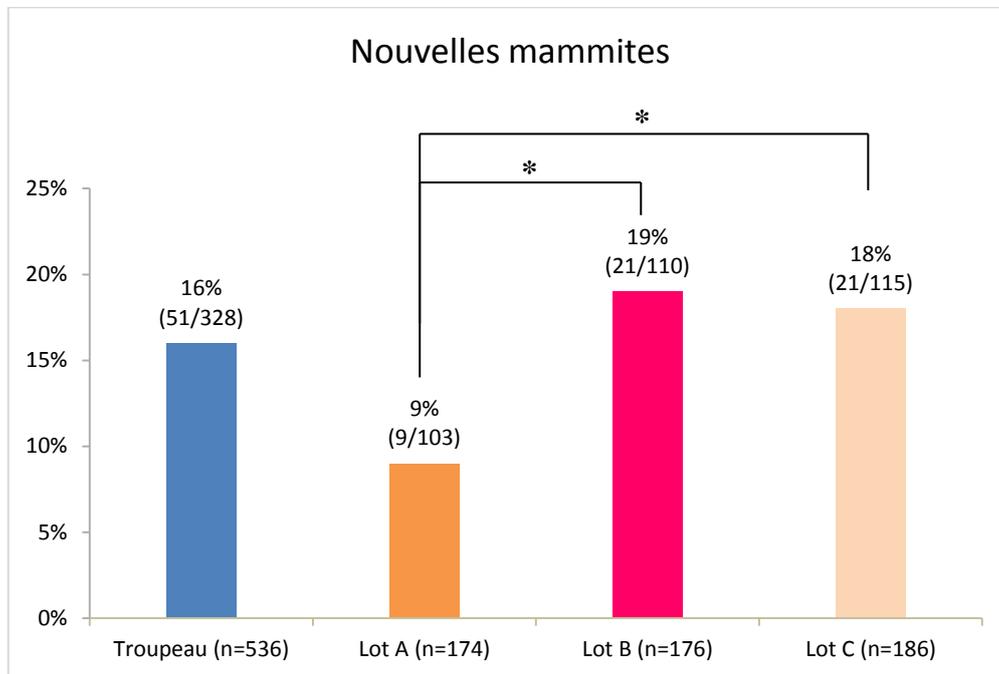


Figure 86 : Taux de nouvelles mammites (critère 5).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,029$; entre le lot B et le lot C $p=0,87$; entre le lot A et le lot C $p=0,041$).

○ Efficacité du traitement antibiotique

Nous observons un taux d'apparition des mammites de 9% pour les héli-mamelles traitées et de 18% pour celles non traitées (Figure 87). Les différences sont significatives au seuil de 0,1 ($p=0,10$).

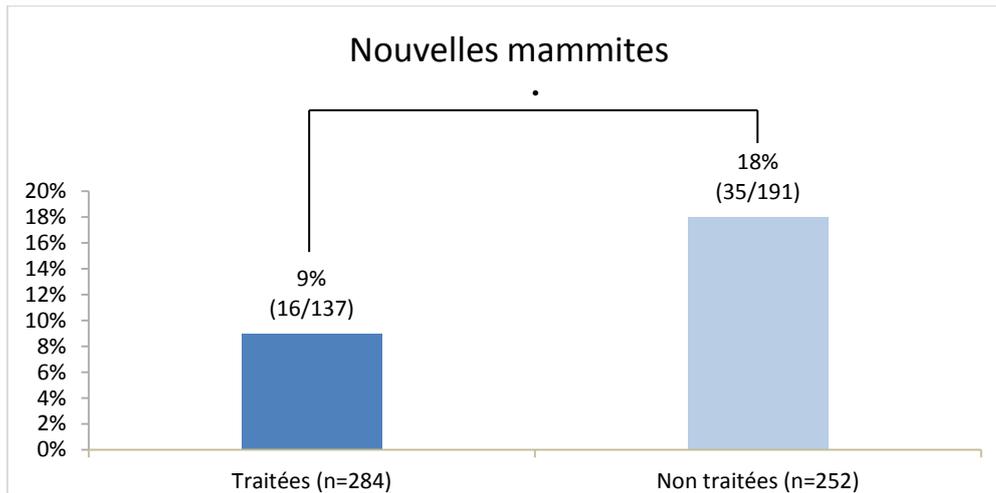


Figure 87 : Taux de nouvelles mammites entre les héli-mamelles traitées et non traitées (critère 5).

(Khi-2 : $p=0,10$).

○ *Efficacité de l'antiseptie*

Avec application d'une antiseptie des trayons, le taux de nouvelles mammites est de 13% contre 18% sans antiseptie. Les différences ne sont cependant pas significatives au seuil de 0,05 ($p=0,14$) (Figure 88).

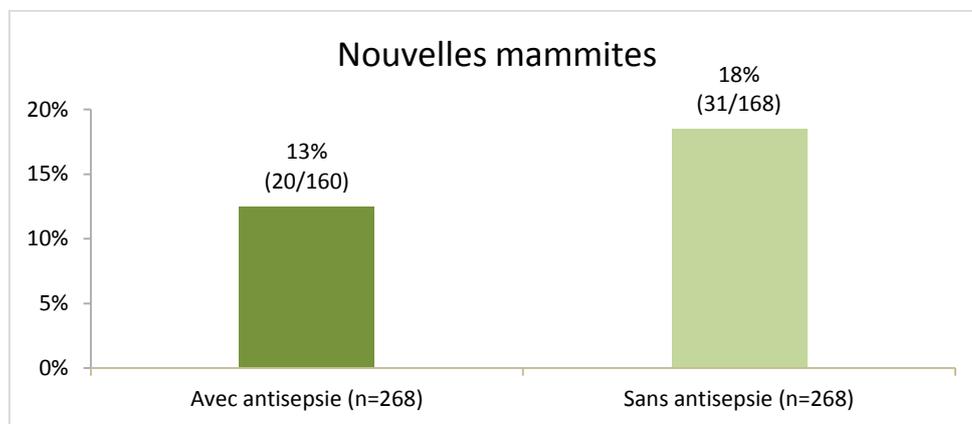


Figure 88 : Taux de nouvelles mammites entre les héli-mamelles ayant reçu l'antiseptie et les autres (critère 5).

(Khi-2 : $p=0,14$).

En ce qui concerne l'interaction entre l'antiseptie et le traitement intra-mammaire, la même tendance que précédemment est retrouvée avec plus de nouvelles infections à la mise bas pour les héli-mamelles non traitées. Pour ce critère, nous remarquons également une augmentation des nouvelles infections pour les héli-mamelles qui n'ont pas reçu d'antiseptie. Les différences ne sont là encore pas significatives au seuil de 0,05.

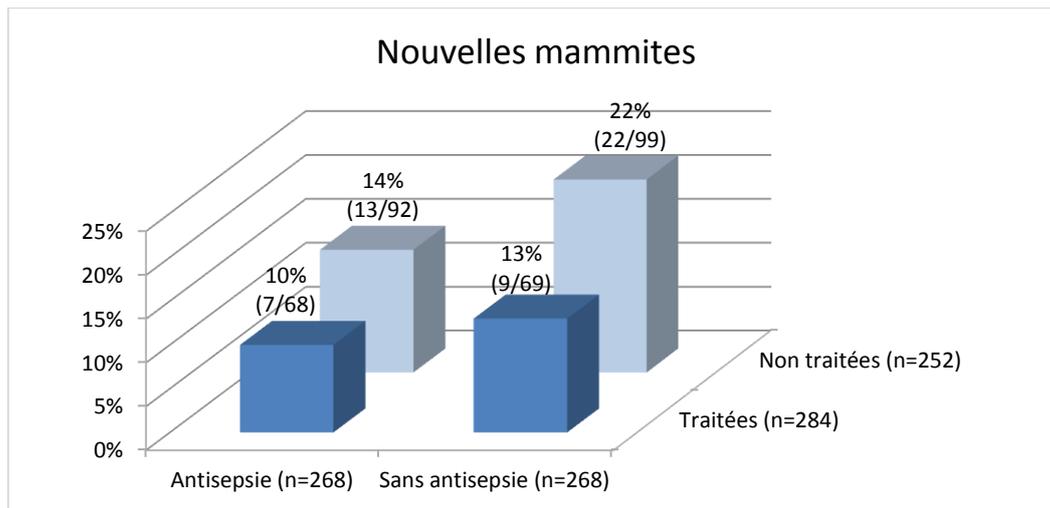


Figure 89 : Taux de nouvelles mammites en fonction de l'antiseptie et du traitement intra-mammaire.

(Khi-2 : pour les héli-mamelles traitées avec ou sans antiseptie $p=0,61$; pour les héli-mamelles non traitées avec ou sans antiseptie $p=0,15$; pour les héli-mamelles ayant reçu l'antiseptie traitées ou non traitées $p=0,47$; pour les héli-mamelles n'ayant pas reçu l'antiseptie traitées ou non traitées $p=0,13$).

Enfin, la comparaison entre l'utilisation prédominante de la Festadine[®] ou du Ioshield[®] (respectivement un pourcentage de nouvelles infections de 12% et 13%) ne donne pas de différence significative au seuil de 0,05 ($p=0,85$).

6. Validation des résultats bactériologiques

a. Validation du contrôle interne

○ Valeurs de CT pour le contrôle interne

Avant de nous intéresser aux résultats pour *Staphylococcus spp.*, nous avons étudié les valeurs prises par le contrôle interne. Le contrôle interne est présent dans chaque échantillon et doit normalement être amplifié en parallèle de *Staphylococcus spp.*. Nous avons observé les valeurs de CT pour le contrôle interne dans les 6 plaques réalisées, chaque plaque comprenant 384 échantillons. Pour rappel, les 5 premières plaques regroupaient l'ensemble de nos prélèvements à J_{FL}, J_T, J₀ et J₄. La sixième plaque était une plaque complémentaire qui reprenait certains échantillons déjà amplifiés dans une des 5 premières plaques. Cette répartition est représentée à la Figure 90.

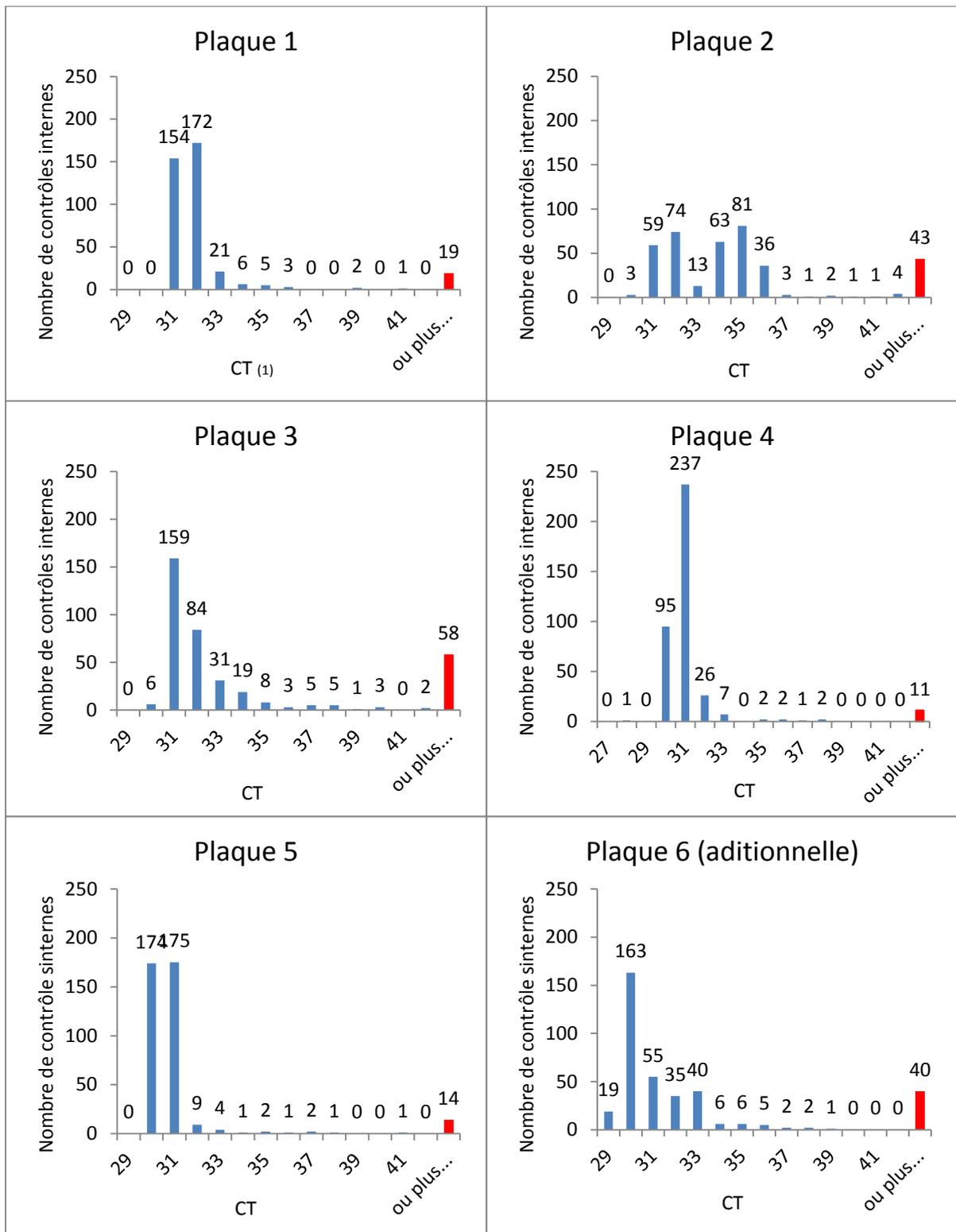


Figure 90 : Répartition des contrôles internes en fonction de leur CT pour les 6 plaques réalisées.

(1) CT : Cycle Threshold, c'est-à-dire nombre de cycles nécessaires pour passer au-dessus du seuil.

Les valeurs de CT pour le contrôle interne vont de 27 à 42. Les moyennes de CT par plaque sont, dans l'ordre, de $31,34 \pm 1,01$, $33,18 \pm 2,20$, $31,64 \pm 1,85$, $30,45 \pm 0,95$, $30,25 \pm 0,99$ et $30,55 \pm 1,68$. La moyenne est plus élevée dans la plaque 2 qui possède également une plus grande variabilité (Figure 91).

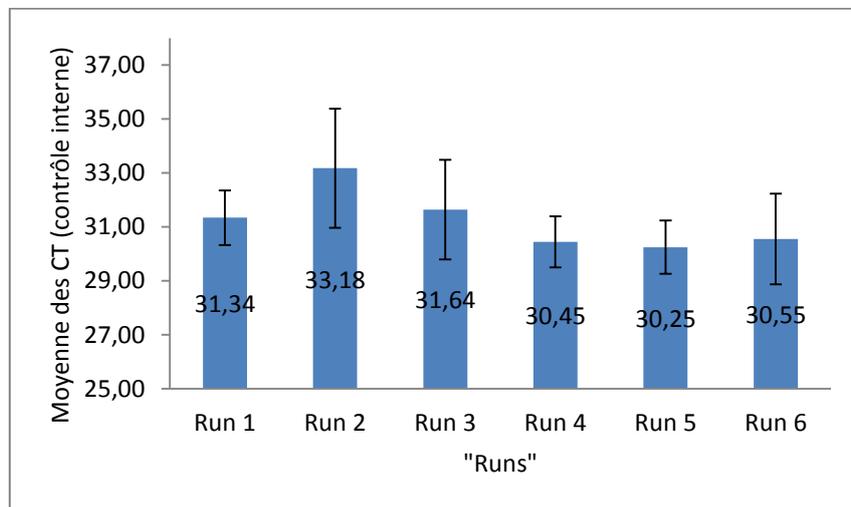


Figure 91 : Moyennes des CT obtenus pour le contrôle interne dans es 6 « runs »

○ *Absence d'amplification du contrôle interne*

D'autre part, certains contrôles internes n'ont pas pu être amplifiés même près 45 cycles et n'ont donc pas de CT (signalés en rouge sur les graphes ci-dessus). Le pourcentage de contrôles internes non amplifiés pour les 5 premières plaques est de 7,55% (soit 145 échantillons sur 1920). Il varie selon les plaques mais également selon la date du prélèvement (J_{FL} , J_T , J_0 ou J_4). Le pourcentage de contrôles internes non amplifiés par dates de prélèvements est représenté à la Figure 92.

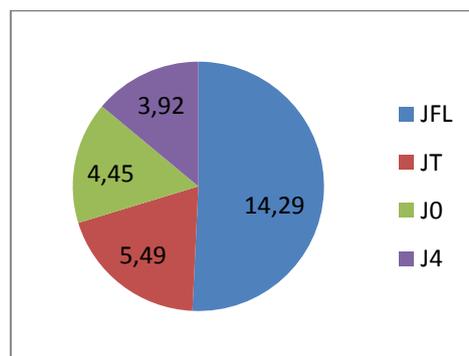


Figure 92 : Pourcentage de contrôles internes non amplifiés par date.

Dans le cas où le contrôle interne n'a pas pu être amplifié, nous n'avons pas non plus d'amplification pour *Staphylococcus spp.*, sauf dans 3 cas où les CT pour *Staphylococcus spp.* sont élevés (CT=38,64, 39,02 et 40,03). Cette absence d'amplification peut indiquer la présence d'inhibiteurs de l'amplification dans le prélèvement, qui inhibe à la fois l'amplification du contrôle interne et de *Staphylococcus spp.*. Par conséquent, pour tous ces échantillons (contrôle interne non amplifié), l'absence d'amplification pour *Staphylococcus spp.* ne peut être interprétée.

Pour lever une potentielle inhibition, nous avons repris tous les échantillons pour lesquels le contrôle interne n'avait pas été amplifié et nous avons réalisé une dilution au cinquième. Les résultats correspondent à la plaque 6. Sur les 145 échantillons concernés, 89% ont finalement donné un résultat interprétable, c'est-à-dire que le contrôle interne a été amplifié après dilution (Figure 93).

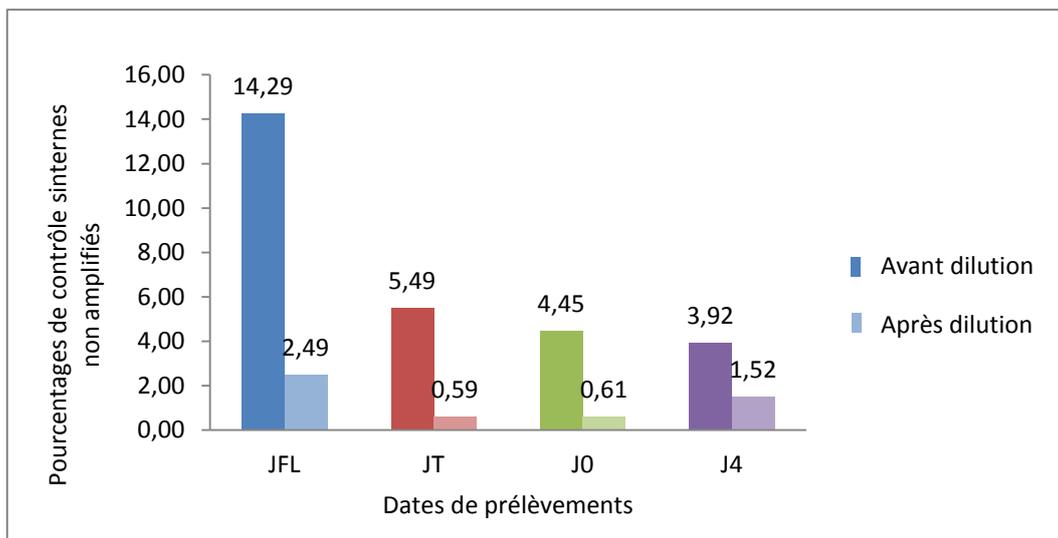


Figure 93 : Evolution des pourcentages de contrôles internes non amplifiés par date avant et après reprise de certains échantillons en dilution.

Pour 16 échantillons restants, le contrôle interne n'a pas non plus été amplifié la seconde fois. Nous n'avons donc pas considéré les résultats de ces 16 échantillons pour la suite de l'interprétation. La répartition de ces 16 échantillons par date est représentée à la Figure 94.

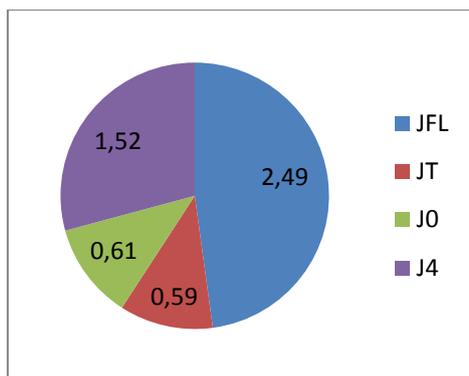


Figure 94 : Pourcentages de contrôles internes non amplifiés par date après reprise de certains échantillons en dilution.

b. Gamme de dilution

Après avoir analysé les valeurs obtenues pour le contrôle interne, nous nous sommes intéressées aux résultats obtenus pour l'amplification *Staphylococcus spp.*. Dans chaque plaque, nous avons en premier lieu regardé les résultats des 8 puits servant de témoins positifs (c'est-à-dire les puits contenant un nombre connu de copies d'ADN de *S. aureus*). Ces valeurs sont regroupées dans le Tableau 20.

Tableau 20 : CT obtenus pour la gamme de dilution selon les plaques

Nombre de <i>S. aureus</i>	Plaque 1	Plaque 2	Plaque 3	Plaque 4	Plaque 5	Plaque 6
10^2	32,68	33,75	33,22	32,98	32,03	32,07
10^2	32,47	33,78	<u>37,53</u>	32,35	32,22	31,43
10^3	29,61	29,57	29,43	29,00	28,85	28,23
10^3	29,47	29,96	29,28	28,74	28,77	29,07
10^4	26,11	26,33	26,13	25,64	25,49	<u>20,07</u>
10^4	26,26	26,39	26,07	25,72	25,58	24,49
10^6	19,37	19,58	19,38	19,06	19,26	18,36
10^6	19,39	19,53	19,44	18,71	19,05	18,37

Nous pouvons remarquer que tous les puits ont été amplifiés. Les puits en doublon, avec un même nombre de *S. aureus spp.*, ont donné des CT très proches à part dans deux cas. Pour ces derniers, nous avons retiré la valeur la plus décalée (souligné dans le tableau). Grâce aux valeurs restantes, nous avons établi des droites-étalons pour chaque plaque (Figure 95).

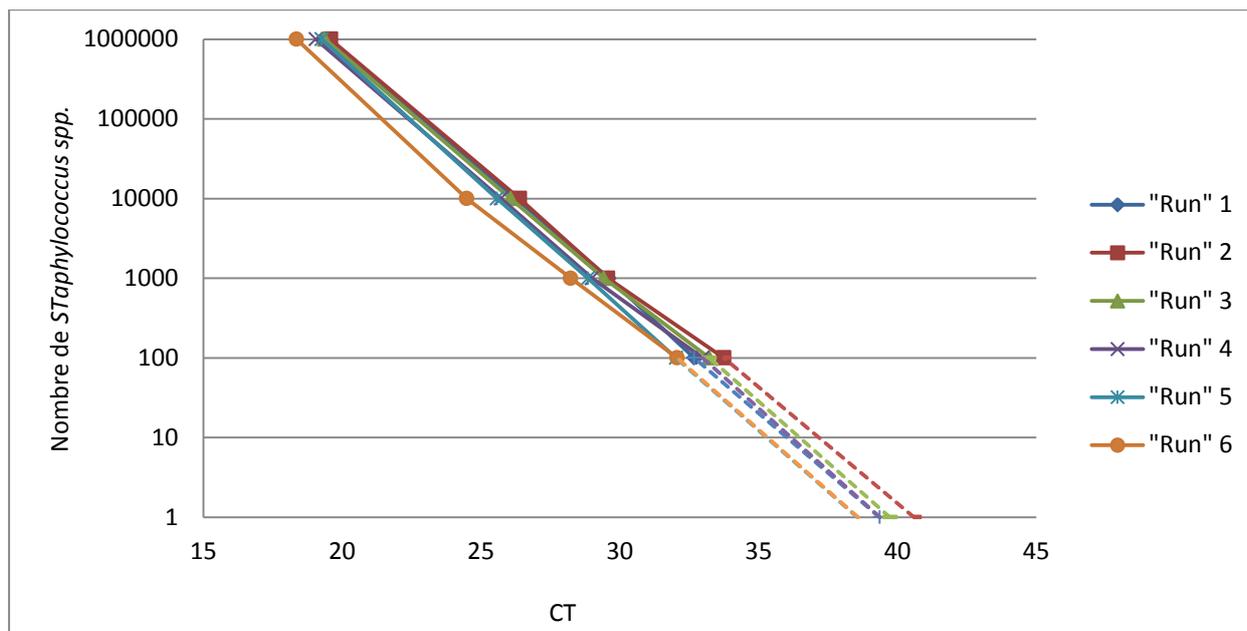


Figure 95 : Gammes de dilution obtenues pour les 6 plaques.

Le run 6 a été réalisé dans un second temps.

Les coefficients de corrélation des 6 droites obtenues sont présentés au Tableau 21. Par la suite, nous avons utilisé ces droites-étalons pour transformer dans chaque plaque les CT en nombre d' « équivalent gènes » par volume réactionnel.

Tableau 21 : Corrélation entre les CT (x) et le nombre de *Staphylococcus spp.* par volume réactionnel de PCR(y) pour chaque plaque.

	Corrélation linéaire	Coefficient de corrélation
Plaque 1	$y = -0,3014x + 11,863$	0,9992
Plaque 2	$y = -0,2833x + 11,502$	0,9983
Plaque 3	$y = -0,2943x + 11,692$	0,9989
Plaque 4	$y = -0,2919x + 11,494$	0,9978
Plaque 5	$y = -0,3086x + 11,9$	0,9997
Plaque 6	$y = -0,2948x + 11,379$	0,9951

c. Répétabilité des résultats

Nous avons ensuite regardé les résultats obtenus pour nos échantillons. Trente-quatre pour cent des échantillons n'ont pas été amplifiés. Les autres ont donné des CT allant de 20,10 à 44,78. Pour estimer la répétabilité de nos résultats, nous avons amplifié une deuxième

fois certains échantillons (plaque 6). La corrélation entre les résultats obtenus lors de la première amplification et lors de la deuxième amplification est présentée à la Figure 96. Les résultats sont donnés en nombre d' « équivalent gènes » par volume réactionnel pour tous les échantillons ayant donné un CT. Les autres échantillons sont dits « négatifs » (absence d'amplification pour *Staphylococcus spp.*).

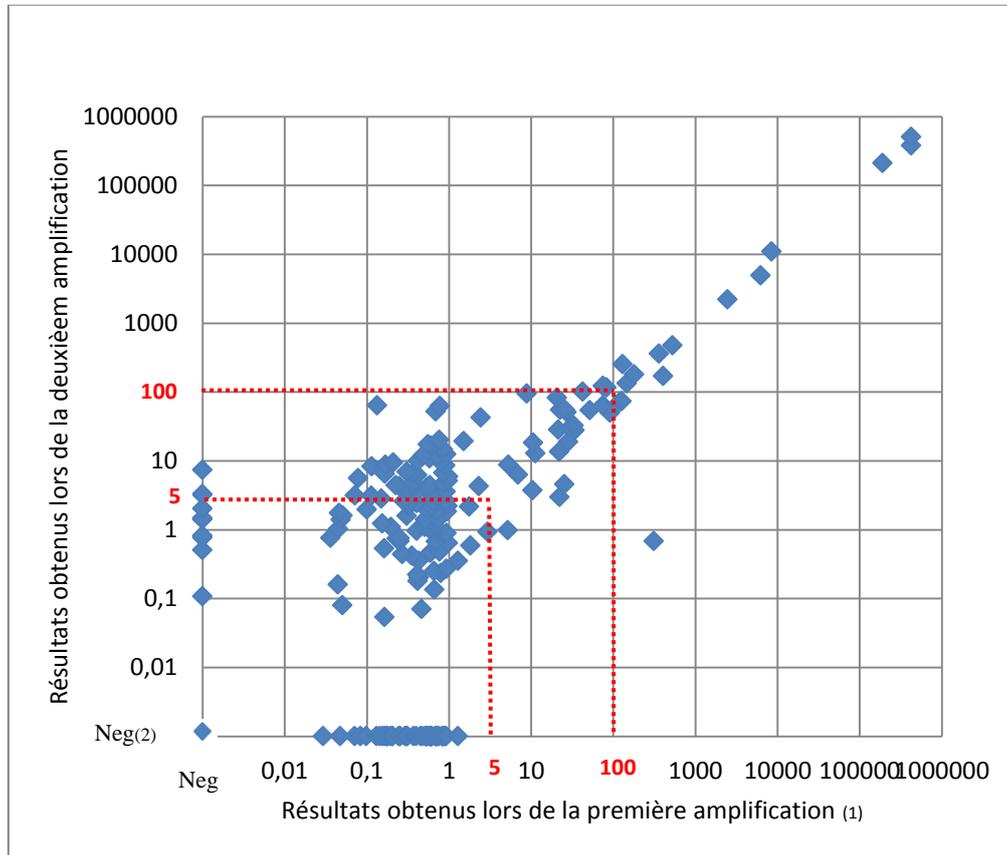


Figure 96 : Corrélation entre la première et la deuxième amplification.

- (1) Les valeurs positives correspondent aux échantillons pour lesquels une amplification a eu lieu ; elles sont données en nombre de *Staphylococcus spp.* (échelle logarithmique).
- (2) Sur l'axe des abscisses et des ordonnées, sont placés les échantillons n'ayant pas été amplifiés et qui sont dits négatifs.

Nous pouvons constater que certains résultats faiblement positifs lors de la première amplification sont négatifs lors de la deuxième et inversement. Cela ne se produit que pour des valeurs inférieures à 10 équivalents gènes de *Staphylococcus spp.* par volume réactionnel. A l'inverse, lorsque les valeurs sont élevées (supérieures à 100 « équivalents gènes » de *Staphylococcus spp.* par volume réactionnel), la corrélation entre les deux amplifications dépasse 0,99. Nous avons recalculé ce coefficient de corrélation en retirant les points avec des

valeurs inférieures successivement à 0,5, 1, 5, 10 et 100 dans l'une des deux amplifications (mais en gardant les résultats dits « négatifs », c'est-à-dire pour lesquels il n'y a pas eu d'amplification). Ces coefficients sont donnés au Tableau 22. En dessous du seuil de 5 « équivalent gènes » de *Staphylococcus spp.* par volume réactionnel, le coefficient de corrélation est inférieur à 0,90.

Tableau 22 : Coefficients de détermination entre la première et la deuxième amplification selon les seuils choisis.

Seuil au-dessus duquel les valeurs sont retenues (en nombre de bactéries)	Coefficient de détermination entre la première et la deuxième amplification
0,5	0,436
1	0,7806
<u>5</u>	<u>0,9435</u>
10	0,9948
<u>100</u>	<u>0,9982</u>

d. Corrélation des résultats bactériologiques et cellulaires

Afin d'affiner la détermination de seuils d'interprétation de cette PCR et en particulier de tenter de différencier un vrai positif (excrétion) d'une contamination lors du prélèvement, nous avons ensuite mis en relation les résultats obtenus en PCR et les statuts cellulaires établis par hémi-mamelles (critère 4). Nous voulions notamment voir si, pour les hémi-mamelles « négatives » du point de vue des comptages cellulaires, une amplification avait lieu, et dans ce cas, quelles valeurs de CT étaient obtenues.

La Figure 97 représente les résultats obtenus par PCR à J_{FL} pour les hémi-mamelles dites « négatives » et « positives » pour les comptages cellulaires en campagne N (critère 4). Nous remarquons que les hémi-mamelles « négatives » n'ont jamais de CT inférieurs à 33 (ce qui correspond suivant les plaques de PCR à un nombre d' « équivalents gènes » autour de 100). Nous avons comparé de la même façon les hémi-mamelles « négatives » et « positives » en fonction de leur résultat PCR à J_T, J₀ et J₄, et la même tendance est retrouvée.

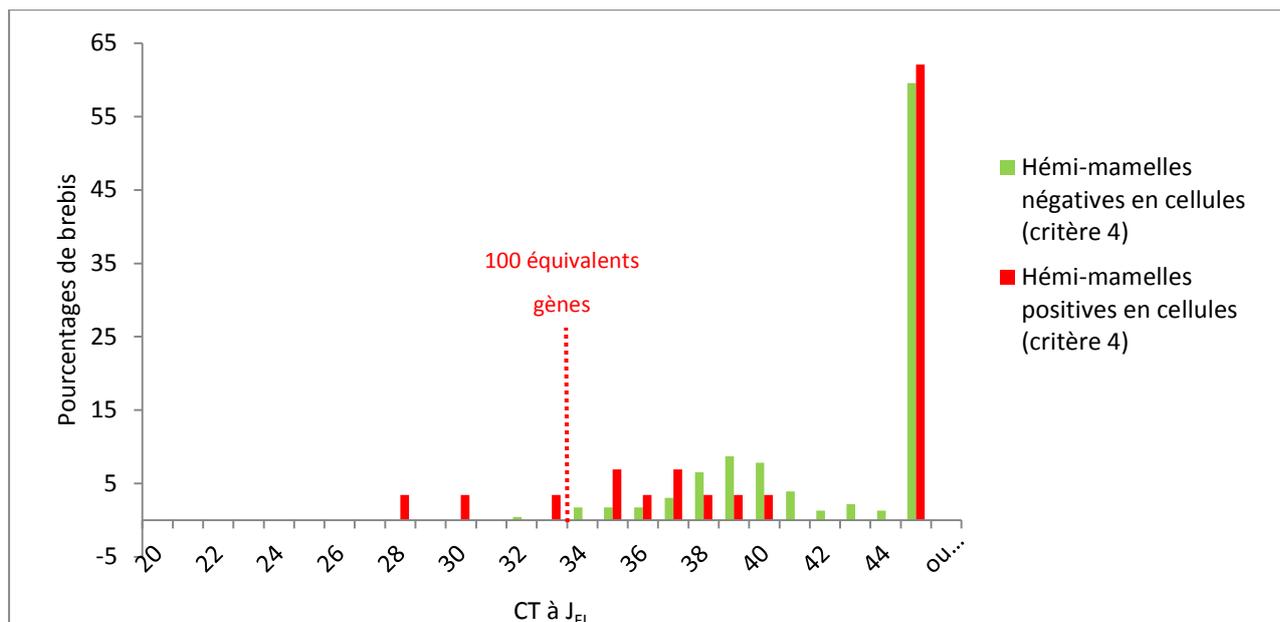


Figure 97: Répartition des résultats PCR obtenus à J_{FL} suivant le statut cellulaire des hémi-mamelles (critère 4)

e. Détermination des seuils pour le critère 6

○ *Seuil inférieur*

En nous fondant sur les résultats précédents (répétabilité des résultats), nous avons choisi comme seuil inférieur la valeur de 5 « équivalents gènes ». Cela correspond, selon les plaques, à des CT allant de 38,13 à 36,23. Les résultats en dessous de ce seuil ont été considérés comme « négatifs », la différenciation entre faiblement « positifs » et faussement « positifs » étant impossible.

○ *Seuil supérieur*

En nous fondant sur la corrélation entre les résultats bactériologiques et cellulaires, nous avons choisi comme seuil supérieur la valeur de 100 « équivalents gènes ». Cela correspond à des CT allant de 31,81 à 33,54. Les résultats au-dessus de ce seuil correspondent probablement à une excrétion vraie (infection intra-mammaire). Les résultats inférieurs à 100 « équivalent gènes » de *Staphylococcus* spp. par volume réactionnel correspondent probablement à une contamination lors du prélèvement (sans exclure une excrétion peu marquée).

7. Efficacité bactériologique (critère 6)

a. Prévalence de *Staphylococcus spp.* par date de prélèvements

- *Distribution des résultats par date de prélèvements*

Les graphes ci-dessous représentent la distribution des résultats obtenus aux 4 dates de prélèvements (Figure 98, Figure 99, Figure 100 et Figure 101). Les échantillons qui n'ont pas été amplifiés sont indiqués en vert.

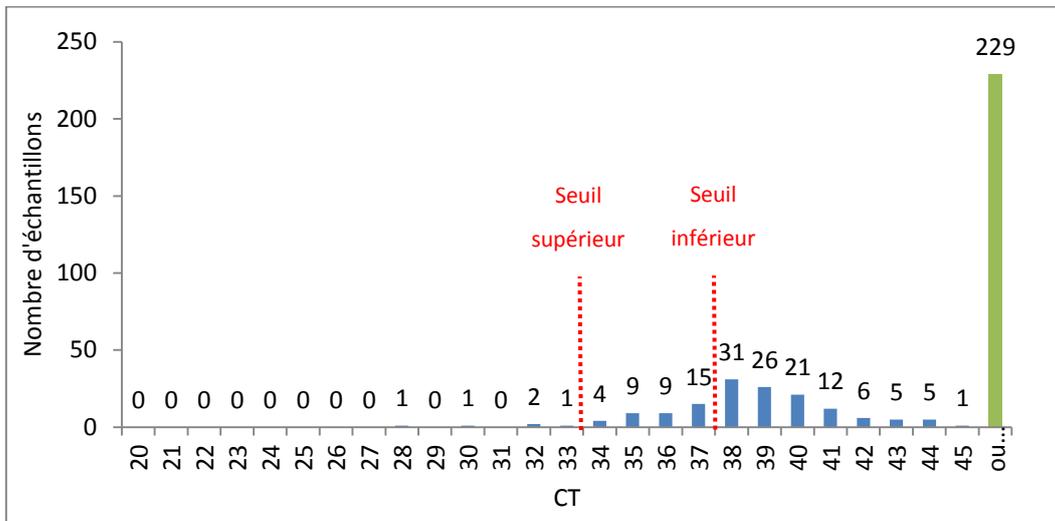


Figure 98 : Distribution des résultats PCR à J_{FL} (en CT).

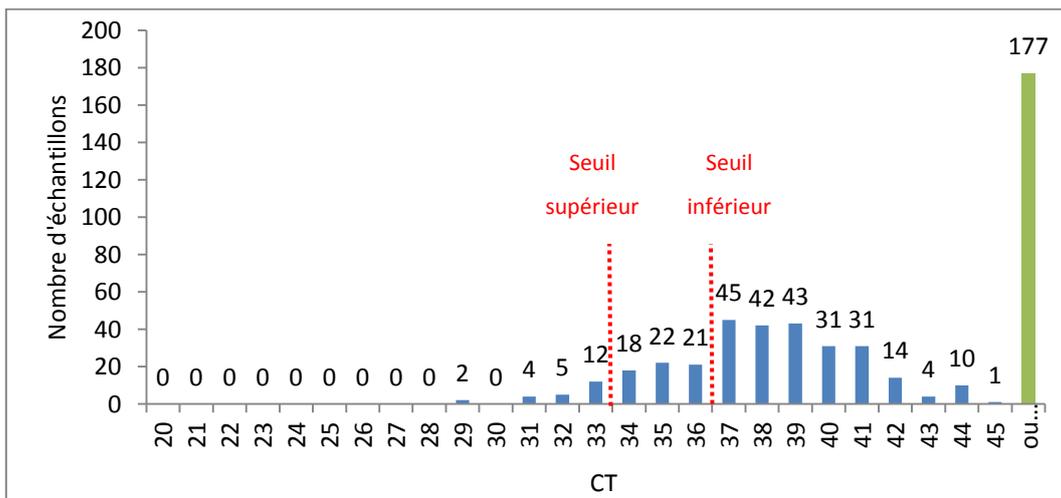


Figure 99 : Distribution des résultats PCR à J_T (en CT).

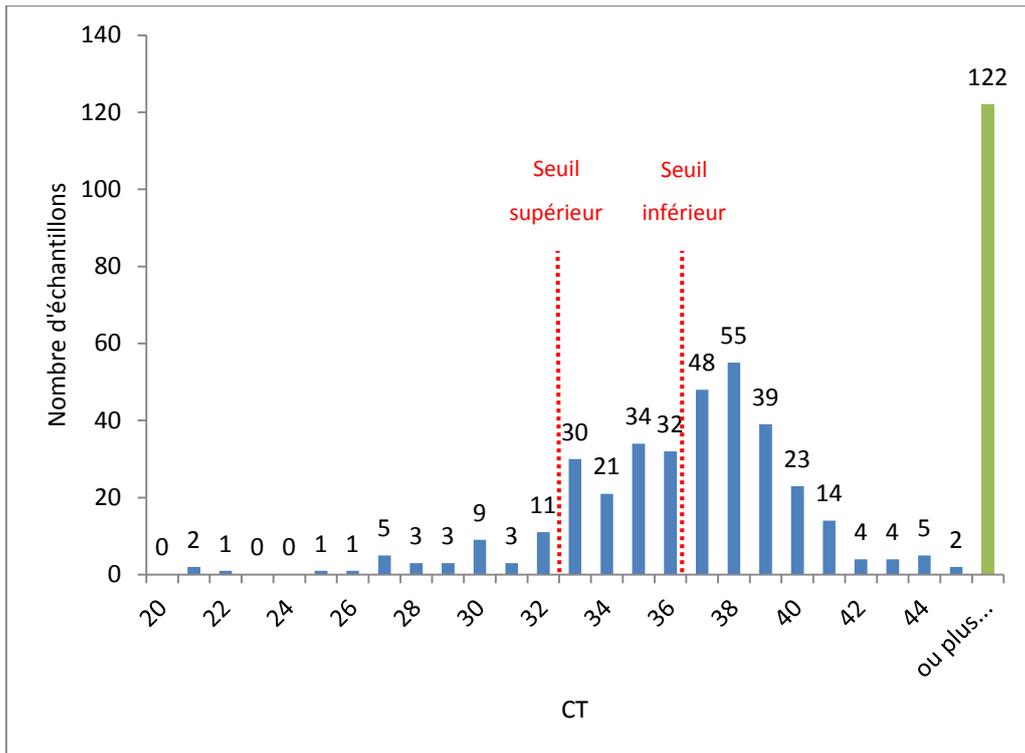


Figure 100 : Distribution des résultats PCR à J₀ (en CT).

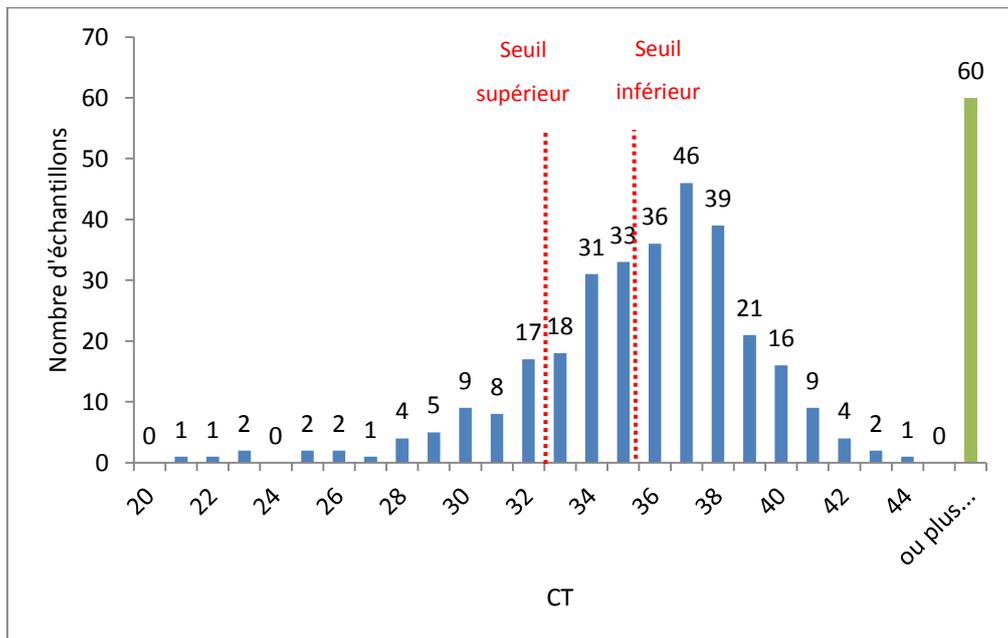


Figure 101 : Distribution des résultats à J₄ (en CT).

○ Evolution des résultats par date de prélèvements

Le nombre d'échantillons pour lesquels il n'y a pas eu d'amplification diminue chronologiquement (de 58,37% à 16,75%), alors que le nombre d'échantillons avec 5 « équivalents gènes » ou plus augmente fortement (de 16,98% à 51,03%).

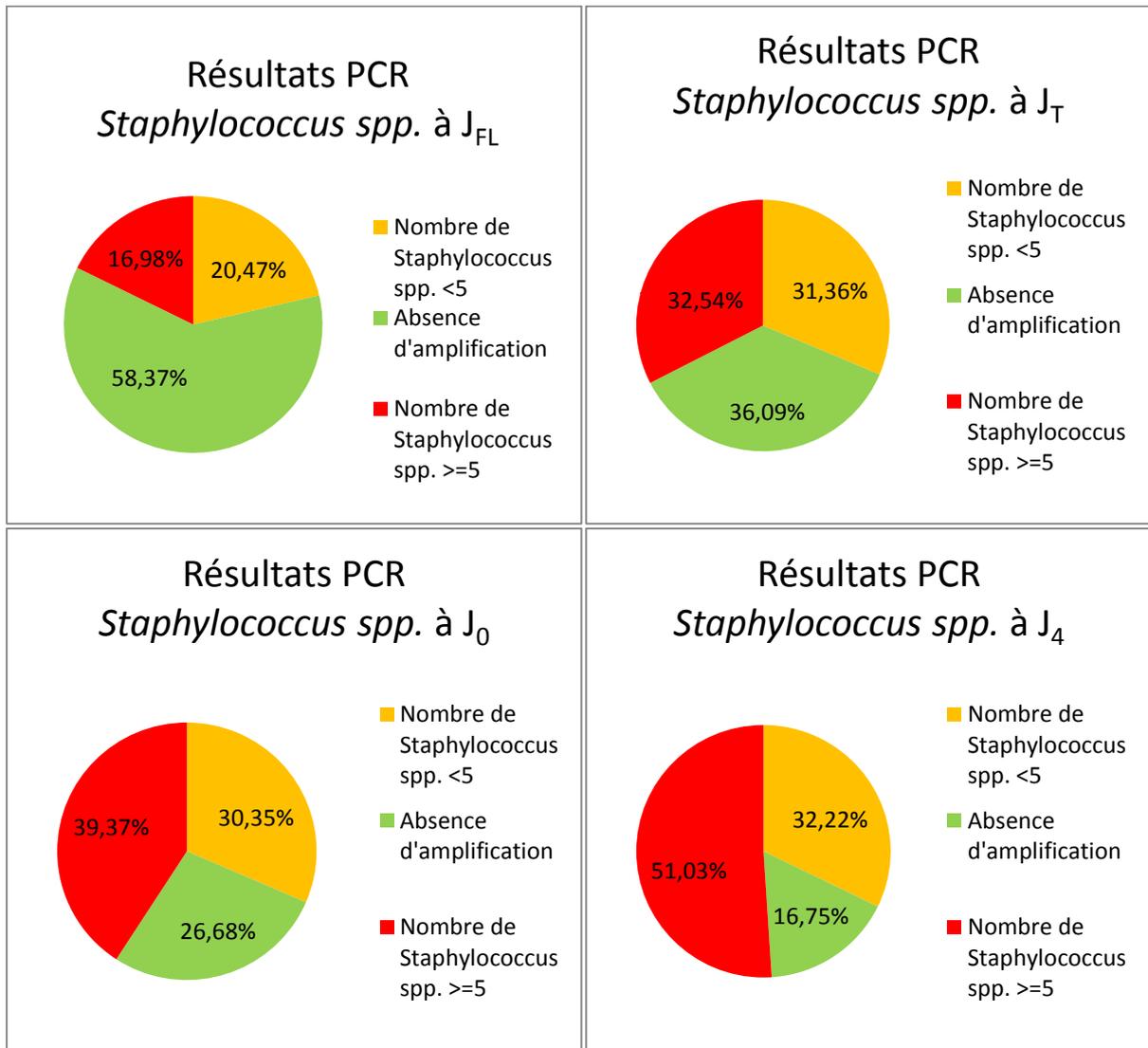


Figure 102 : Evolution des résultats PCR *Staphylococcus spp.* aux différentes dates de prélèvement.

b. Efficacité curative de l'antibiothérapie (critère 6)

○ Comparaison des lots

Si nous examinons les brebis « positives » lors de la campagne laitière N pour le critère 6, nous pouvons remarquer que 39% d'entre elles cessent d'excréter de *Staphylococcus spp.* dans l'ensemble des lots. Ce pourcentage est plus élevé dans le lot A que dans les autres lots (Figure 103). Les différences ne sont pas significatives ($p>0,1$).

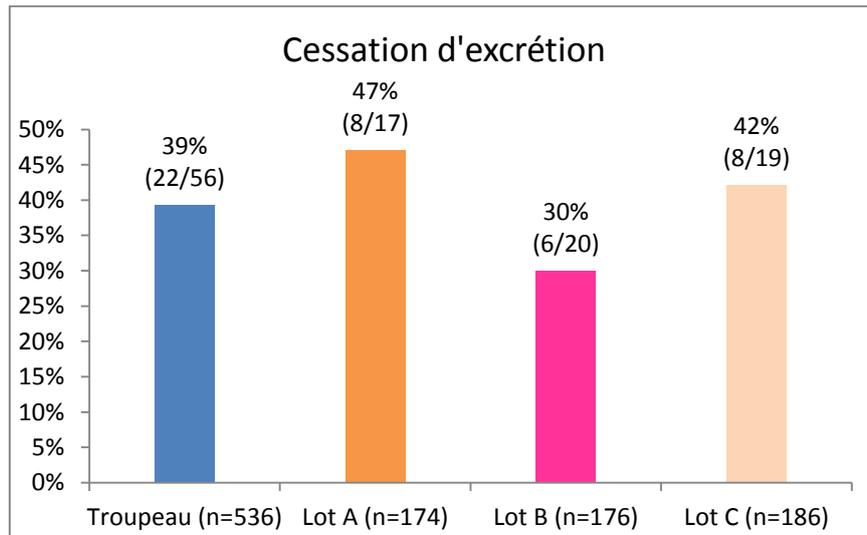


Figure 103: Taux de cessation d'excrétion dans les 3 lots (critère 6).

(Khi-2: entre le lot A et le lot B $p=0,29$; entre le lot B et le lot C $p=0,43$; entre le lot A et le lot C $p=0,77$).

○ Efficacité du traitement antibiotique

Le taux d'élimination est plus élevé pour les hémimamelles non traitées que pour les hémimamelles traitées (tous lots confondus). Néanmoins, aucune différence significative n'est retrouvée entre les deux ($p>0,1$).

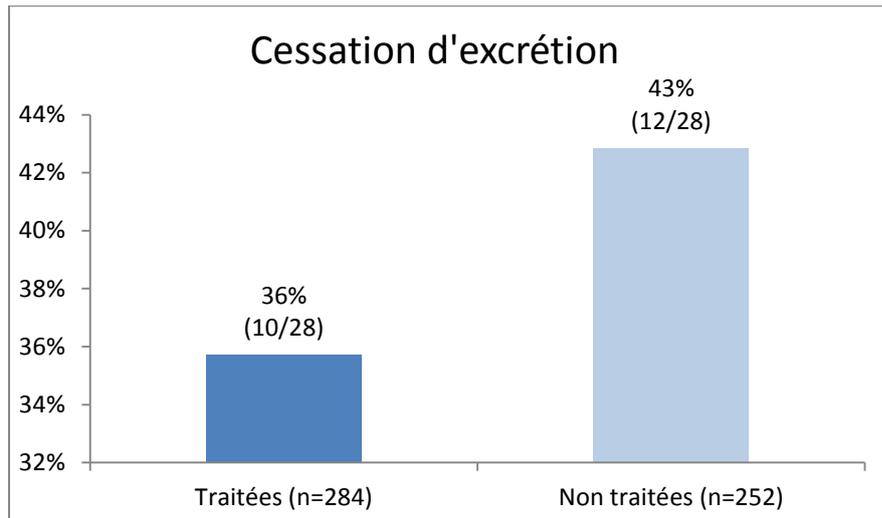


Figure 104: Comparaison des taux de cessation d'excrétion entre les hémimamelles traitées et non traitées (critère 6).

(Khi-2 : $p=0,58$).

c. Efficacité préventive (critère 6)

○ Comparaison des lots

Les taux de nouvelles excréctions sont très similaires d'un lot à l'autre (entre 18% pour le lot A et 21% pour le lot C). Les différences ne sont pas significatives ($p>0,1$) (Figure 105).

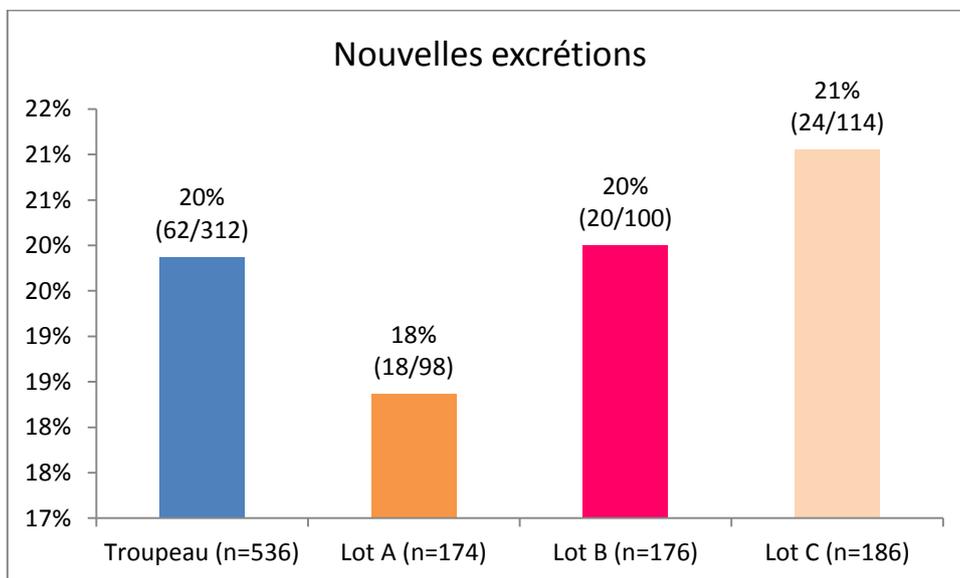


Figure 105: Taux de nouvelles excréctions dans les 3 lots (critère 6).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot B $p=0,77$; entre le lot B et le lot C $p=0,85$; entre le lot A et le lot C $p=0,62$).

○ *Efficacité du traitement antibiotique*

Le taux de nouvelles excrétions est plus faible parmi les brebis traitées (16%) que non traitées (24%). La différence entre les deux est significative au seuil de 0,1 ($p=0,061$).

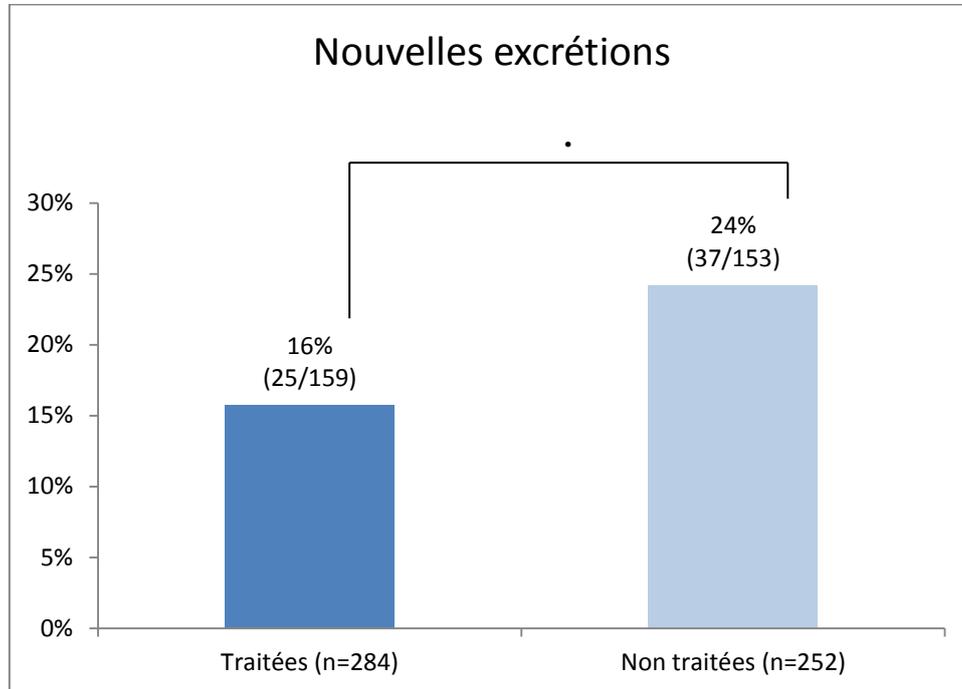


Figure 106: Comparaison des taux de nouvelles excrétions entre les héli-mamelles traitées et les héli-mamelles non traitées (critère 6).
(Khi-2 : $p=0,061$).

○ *Efficacité de l'antisepsie*

Parmi les héli-mamelles ayant reçu l'antibiothérapie intra-mammaire, le taux de nouvelles excrétions est plus faible pour les héli-mamelles ayant également reçu l'antisepsie que pour celles ne l'ayant pas reçu (Figure 107). La différence n'est néanmoins pas significative ($p>0,1$).

Si nous regardons uniquement les héli-mamelles ayant reçues l'antisepsie, nous trouvons une différence significative ($p=0,064$) entre celles ayant en plus reçues l'antibiothérapie et celles ne l'ayant pas reçue.

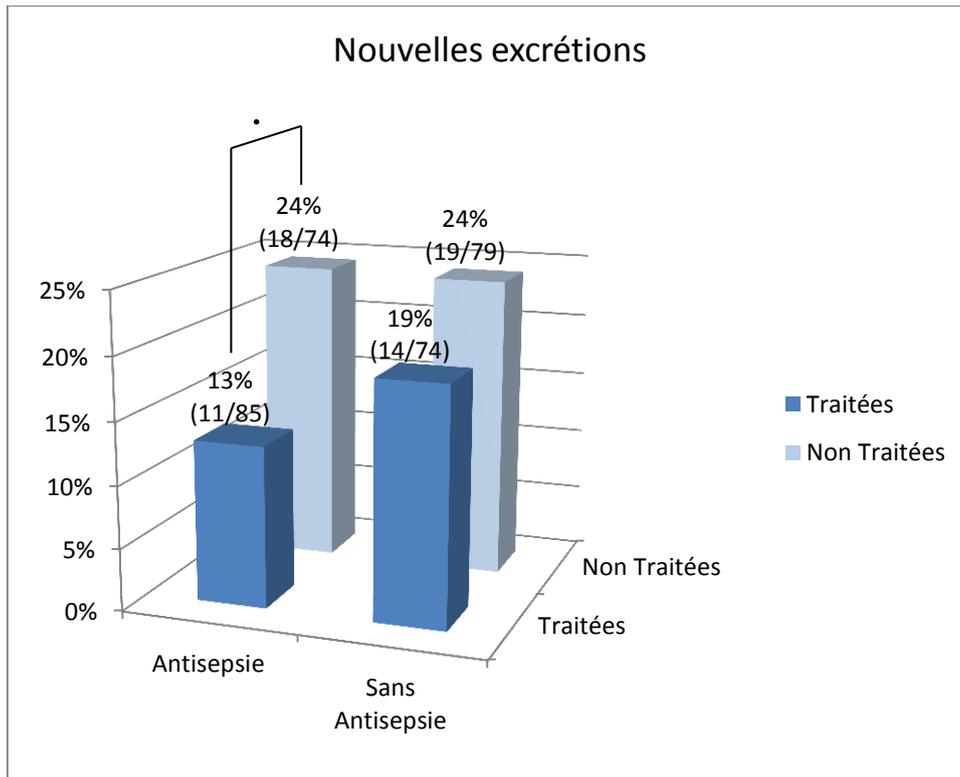


Figure 107: Pourcentages de nouvelles excréctions en fonction de l'antibiothérapie et de l'antiseptie (critère 6).

(Khi-2 : pour les hémis-mamelles traitées avec ou sans antiseptie $p=0,73$; pour les hémis-mamelles non traitées avec ou sans antiseptie $p=0,97$; pour les hémis-mamelles ayant reçu l'antiseptie traitées ou non traitées $p=0,064$; pour les hémis-mamelles n'ayant pas reçu l'antiseptie traitées ou non traitées $p=0,15$).

8. Synthèse des résultats

a. Efficacité curative

L'ensemble des résultats obtenus pour l'élimination de l'infection est regroupé au Tableau 23.

Tableau 23: Comparaison des pourcentages d'élimination de l'infection selon les différents critères.

Critères	Echelle	Données	Troupeau	Lot A	Lot B	Lot C	Traitées	Non traitées
Critère 1	Hémi-mamelle	Clinique	64% (57/89)	67% (20/30)	64% (18/28)	61% (19/31)	66% (47/71)	56% (10/18)
Critère 2	Mamelle	Cellulaire	50% (10/20)	38% (3/8)	71% (5/7)	40% (2/5)	/	/
Critère 3	Mamelle	Cellulaire	36% (10/28)	25% (2/8)	50% (5/10)	30% (3/10)	/	/
Critère 4	Hémi-mamelle	Cellulaire	73% (30/41)	71% (10/14)	63% (10/16)	91% (10/11)	70% (19/27)	79% (11/14)
Critère 5	Hémi-mamelle	Cellulaire + clinique	71% (68/96)	67% (22/33)	74% (23/31)	72% (23/32)	73% (67/94)	64% (14/22)
Critère 6	Hémi-mamelle	Bactériologique	39% (22/56)	47% (8/17)	30% (6/20)	42% (8/19)	36% (10/28)	43% (12/28)

Nous avons représenté ces résultats graphiquement, d'abord en comparant les pourcentages entre les lots (Figure 108), puis entre les brebis traitées ou non traitées (Figure 109). Nous remarquons que le pourcentage d'élimination est plus élevé dans le lot B pour les critères 2 et 3 (à l'échelle de la brebis). Pour le critère 4 (cellulaire à l'échelle de l'hémi-mamelle), c'est le lot B qui a le meilleur pourcentage d'élimination. Pour les autres critères, les résultats sont très proches quelque soit le lot. Les différences ne sont pas significatives ($p > 0,1$).

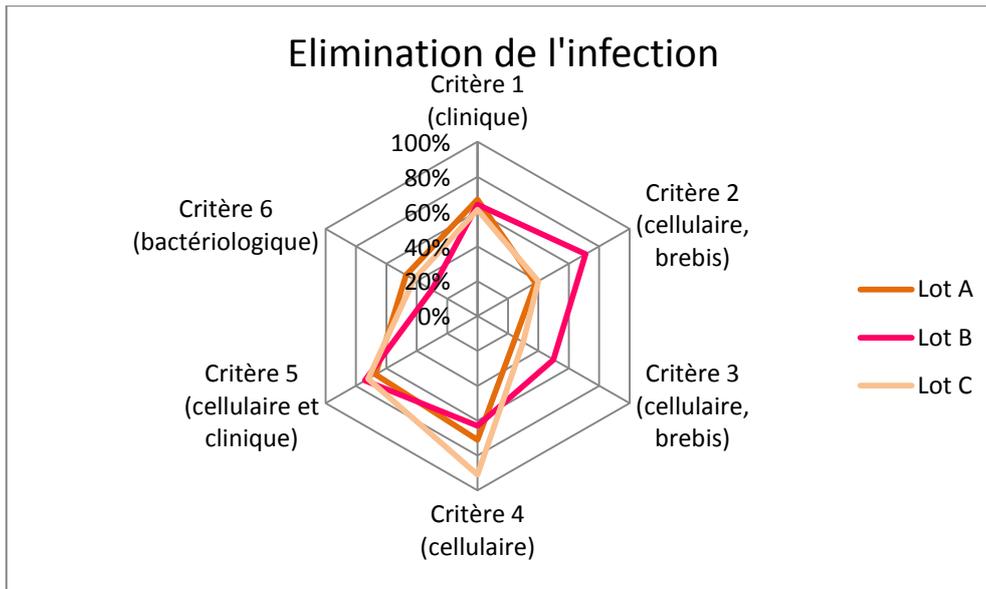


Figure 108 : Pourcentages d'élimination de l'infection selon le lot pour l'ensemble des critères.

Si nous regardons à présent l'influence du traitement, nous pouvons voir que les résultats sont très proches avec ou sans traitement. Là encore, aucune différence significative n'est retrouvée ($p > 0,1$).

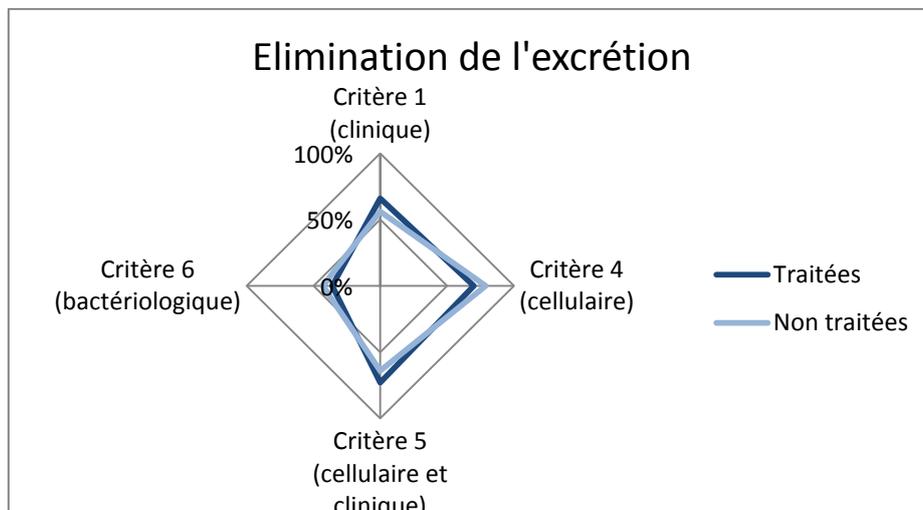


Figure 109 : Pourcentages d'élimination de l'infection selon le traitement pour l'ensemble des critères.

b. Efficacité préventive (antibiothérapie)

Nous avons également regroupé l'ensemble des résultats concernant l'apparition de nouvelles infections au Tableau 24.

Tableau 24: Comparaison des pourcentages de nouvelles infections selon les différents critères.

Critères	Echelle	Données	Troupeau	Lot A	Lot B	Lot C	Traitées	Non traitées
Critère 1	Hémi-mamelle	Clinique	17% (52/301)	12% ⁽¹⁾ (11/95)	19% (18/97)	21% ⁽¹⁾ (23/109)	13% ⁽²⁾ (16/128)	21% ⁽²⁾ (36/137)
Critère 2	Mamelle	Cellulaire	10% (16/157)	8% (4/50)	12% (6/52)	11% (6/55)	7% (4/58)	12% (12/99)
Critère 3	Mamelle	Cellulaire	8% (12/146)	2% (1/45)	12% (6/50)	10% (5/51)	2% ⁽³⁾ (1/49)	11% ⁽³⁾ (11/97)
Critère 4	Hémi-mamelle	Cellulaire	11% (35/328)	7% (7/103)	12% (13/110)	13% (15/115)	8% (11/137)	13% (24/191)
Critère 5	Hémi-mamelle	Cellulaire + clinique	16% (51/328)	9% ⁽⁴⁾⁽⁵⁾ (9/103)	19% ⁽⁴⁾ (21/110)	18% ⁽⁵⁾ (21/115)	9% ⁽⁶⁾ (16/137)	18% ⁽⁶⁾ (35/191)
Critère 6	Hémi-mamelle	Bactériologique	20% (63/312)	18% (18/98)	20% (20/100)	21% (24/114)	16% ⁽⁷⁾ (25/159)	24% ⁽⁷⁾ (37/153)

Khi-2 : (1) p=0,069 ; (2) p=0,050 ; (3) p=0,096 ; (4) p=0,029 ; (5) p=0,041 ; (6) p=0,10 ; (7) p=0,061.

Lorsque nous comparons le pourcentage de nouvelles infections entre les lots, nous constatons qu'il est toujours plus faible dans le lot A, quelque soit le critère (Figure 110). La différence est significative pour les critères 1 et 5, qui prennent tous les deux en compte la clinique (critère 1 : p=0,069 entre les lots A et C ; critère 5 : p=0,029 entre les lots A et B, p=0,041 entre les lots A et C).

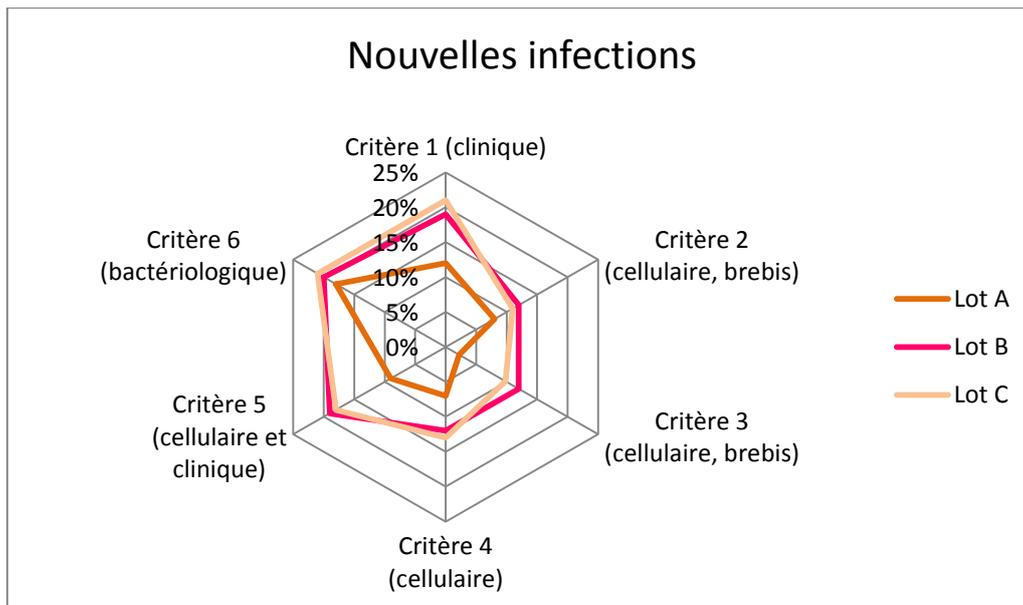


Figure 110 : Pourcentages de nouvelles infections selon le lot pour l'ensemble des critères.

Une différence est également retrouvée pour le traitement : les mamelles ou les hémimamelles traitées présentent un pourcentage de nouvelles infections plus faible que les non traitées (Figure 111). La différence est significative pour le critère 1 ($p=0,050$), le critère 3 ($p=0,096$), le critère 5 ($p=0,10$) et le critère 6 ($p=0,061$).

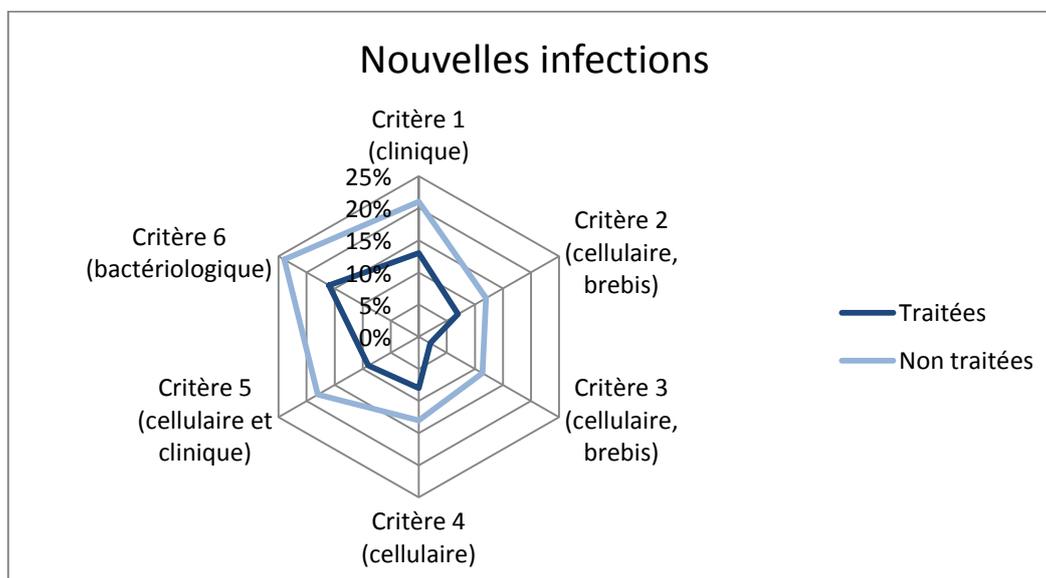


Figure 111 : Pourcentages de nouvelles infections selon le traitement pour l'ensemble des critères.

III. Facteurs associés à l'efficacité de l'antibiothérapie intramammaire

Nous avons étudié l'influence de différents facteurs sur le pourcentage d'élimination et de prévention des nouvelles infections. Au total, seize facteurs ont été analysés, après avoir été transformé en variables qualitatives (Tableau 25).

Tableau 25 : Variables qualitatives

Variable étudiée	Classes			
Traitement antibiotique	Hémi-mamelles non traitées		Hémi-mamelles traitées	
Lot (traitement)	Lot A	Lot B		Lot C
Antiseptie	Antiseptie		Sans antiseptie	
Lot de mise bas lors de la campagne N	Lot 1 : mise bas du 13/10/2013 au 21/10/2013	Lot 2 : mise bas du 24/10/2013 au 06/11/2013	Lot 3 : mise bas du 8/11/2013 au 24/11/2013	Lot 4 : mise bas du 01/12/2013 au 10/03/2014
Lots de mise bas lors de la campagne N+1	Lot 1 : mise bas du 28/09/2014 au 14/10/2014	Lot 2 : mise bas du 15/10/2014 au 19/10/2014	Lot 3 : mise bas du 26/10/2014 au 01/11/2014	Lot 4 : mise bas du 02/11/2014 au 10/11/2014
Rang de lactation	Rang 1	Rang 2		Rang 3 et plus
Nombre d'agneaux (campagne N+1)	0 agneaux	1 agneau	2 agneaux	3 agneaux et plus
Index lait	<-100	[-100 ; 300]		>300
Index cellules	<-0,4	[-0,4 ; 0,6]		>0,6
Index production	<-200	[-200 ; 400]		>400
Taux d'urée tarissement (lait) (mg/ml)	<225	[225 ; 375]		>375

Conformation de la mamelle	0	1	2
Ancienneté des mammites subcliniques (campagne N+1)	Début de l'infection avant la mise à l'herbe (14/03/2014)	Début de l'infection au moment de la mise à l'herbe (entre le 14/03/2014 et le 11/04/2014)	Début de l'infection après la mise à l'herbe (11/04/2014)
Aire sous la courbe des comptages cellulaires (ensemble de la campagne N [log])	< 13	[13 ; 16]	>16
Aire sous la courbe des comptages cellulaires (3 derniers CL [log])	<12,5	[12,5 ; 15,5]	>15,5
Aire sous la courbe de la production laitière (3 derniers CL [log])	<5,1	[5,1 ; 5,3]	>5,3

Nous avons comparé les pourcentages d'élimination de l'infection et de nouvelles infections au sein des classes de chaque facteur. Lorsqu'une différence significative apparaissait, nous avons calculé des risques relatifs. Ces calculs ont été réalisés pour une partie de nos critères, en se limitant aux critères relatifs aux héli-mamelles (car nous ne possédions pas assez de puissance statistique à l'échelle de la mamelle). L'influence des facteurs a donc été étudié pour le critère clinique (critère 1), le principal critère cellulaire (critère 4) et le critère bactériologique (critère 6) séparément.

En dernier, nous avons étudié un facteur particulier : la présence ou non d'un traitement antibiotique dans l'hémi-mamelle contro-latérale pour une hémi-mamelle non infectée (et non traitée).

1. Facteurs associés à la traduction clinique des infections (critère 1)

a. Facteurs associés à la disparition des signes cliniques

○ Identification des facteurs significativement associés

Au niveau clinique, seul un facteur a un impact sur le pourcentage d'élimination ; il s'agit du rang de lactation (Figure 112). Les hémi-mamelles des brebis de rang 3 et plus ont un taux d'élimination significativement plus élevé que les hémi-mamelles des brebis de rang 2 ($p=0,07$).

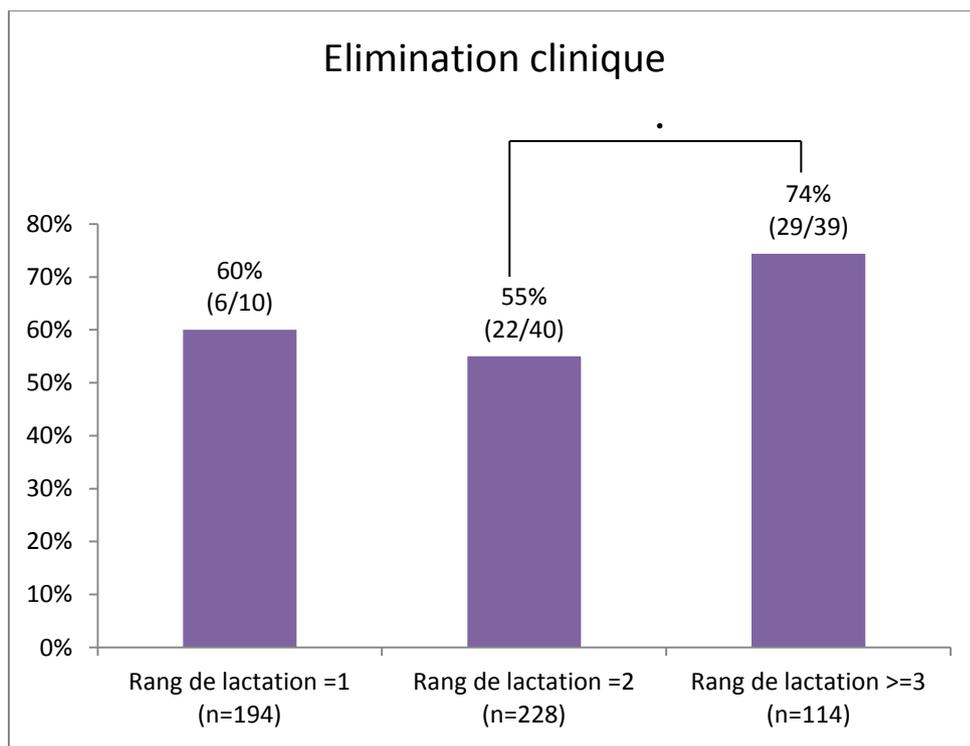


Figure 112 : Taux d'élimination des signes cliniques selon le rang de lactation (critère 1).

(Khi-2 : entre le rang 2 et le rang ≥ 3 : $p=0,07$; pour le reste : $p>0,1$).

- *Risque relatif pour chaque facteur*

Ainsi, pour les brebis de rang 3 et plus il est 1,48 [0,49 ; 4,46] fois plus probable qu'elles d'éliminent les signes cliniques d'une infection que les brebis de rang 2, et 1,21 [0,20 ; 7,18] fois plus probable que les brebis de rang 1.

b. Facteurs associés à l'apparition de nouveaux signes cliniques

- *Identification des facteurs significativement associés*

Trois facteurs présentent une différence significative au seuil de 0,05 pour le pourcentage de nouvelles infections : le traitement antibiotique, le rang de lactation et le lot de mise bas à la campagne N. Les résultats sont donnés à la Figure 113, à la Figure 114 et à la Figure 115.

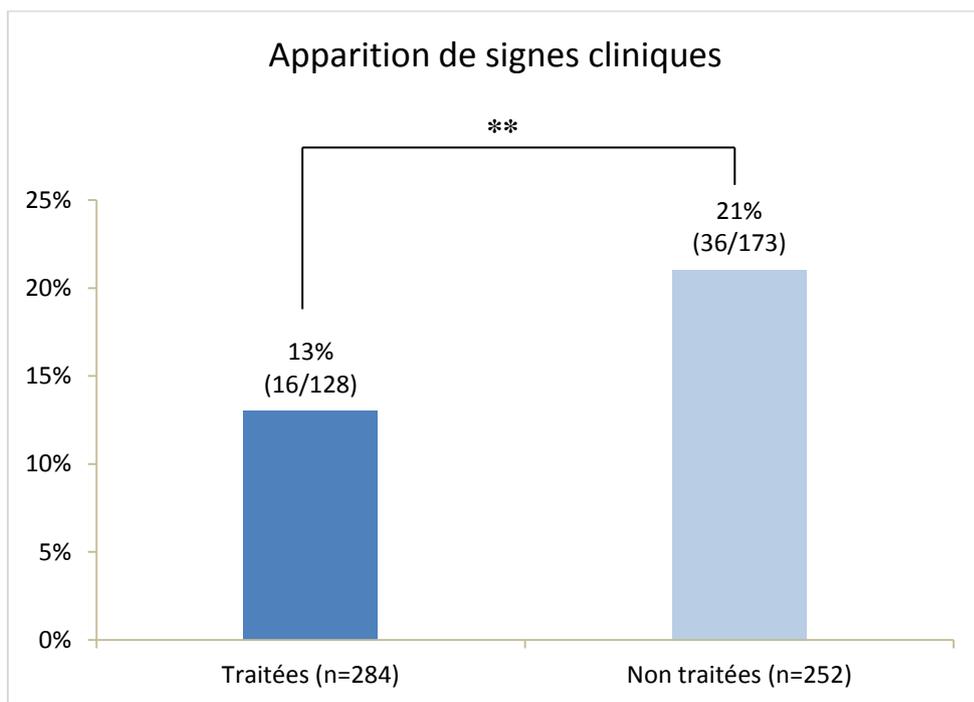


Figure 113 : Taux d'apparition de signes cliniques entre les héli-mamelles traitées et non traitées (critère 1).
(Khi-2 : p=0,050).

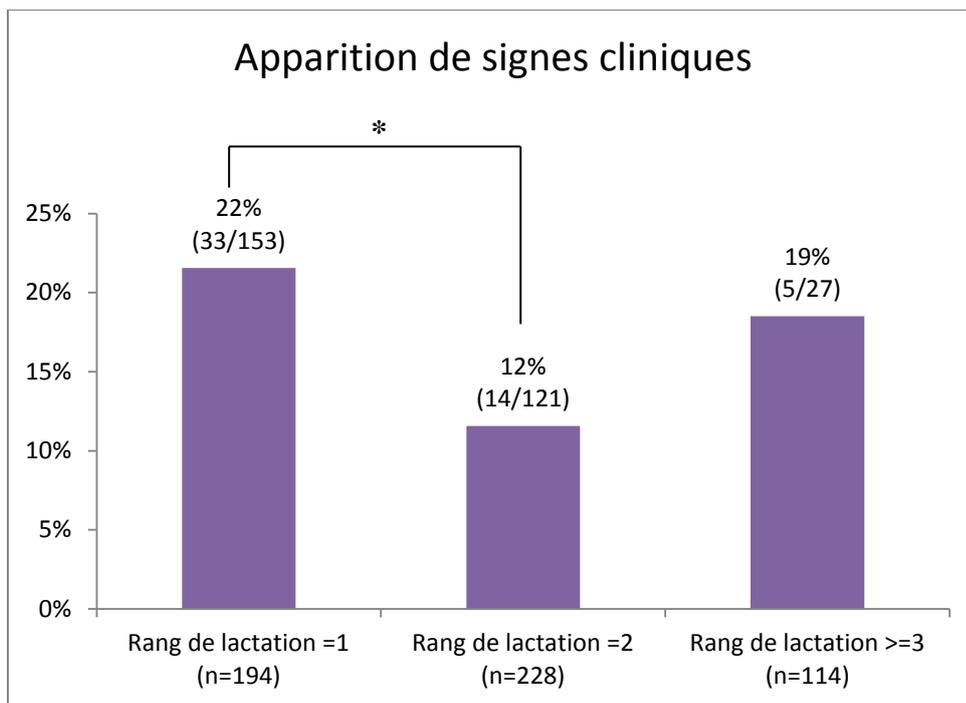


Figure 114 : Taux d'apparition de signes cliniques selon le rang de lactation (critère 1).
 (Khi-2 : entre les brebis de rang 1 et les brebis de rang 2 : $p=0,029^*$; pour le reste, $p>0,1$).

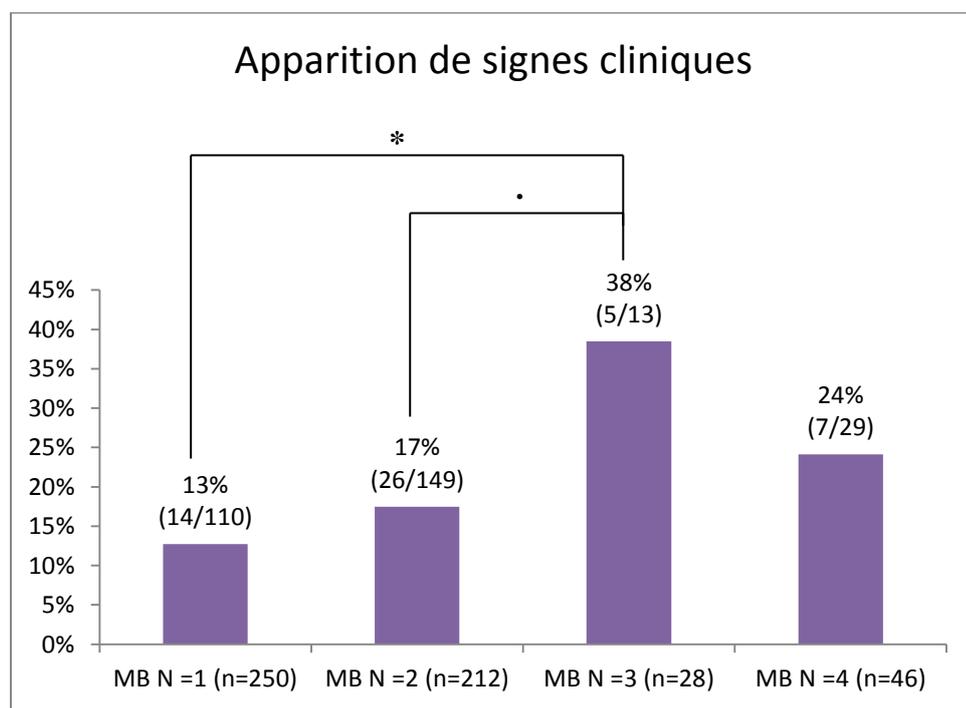


Figure 115 : Taux d'apparition de signes cliniques selon le lot de mise bas à la campagne N (critère 1).

(Khi-2 : entre les brebis du lot 1 et du lot 3 : $p=0,015$).

Khi-2 de Yates : entre les brebis du lot 2 et du lot 3 : $p=0,065^*$; pour le reste : $p>0,1$).

De plus, deux facteurs présentent une différence significative au seuil de 0,1 : le lot et l'aire sous la courbe des cellules à la campagne N. Les résultats sont donnés à la Figure 116 et à la Figure 117.

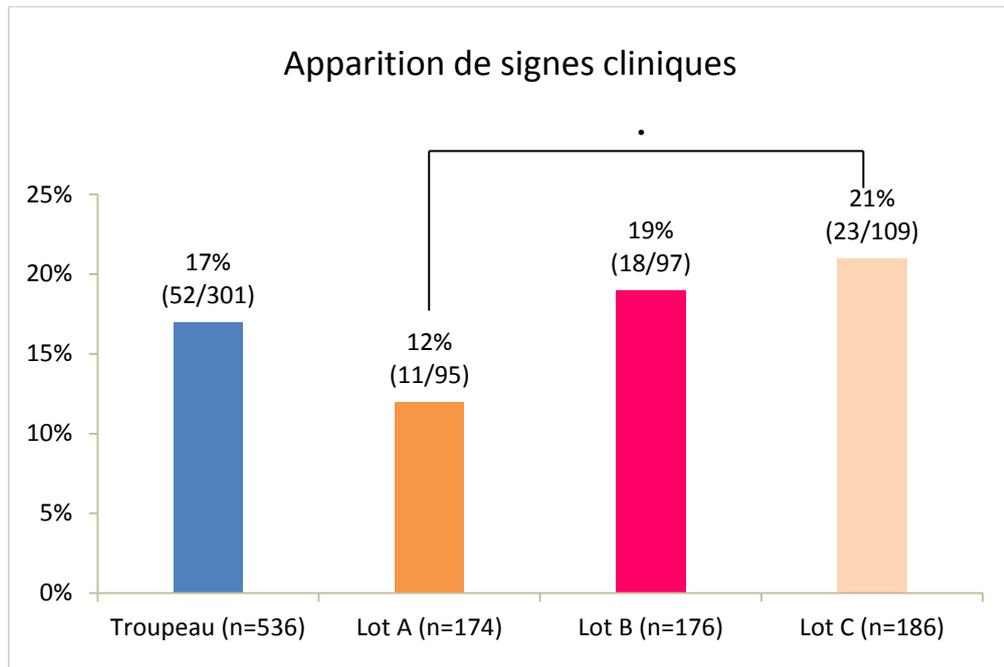


Figure 116 : Taux d'apparition de signes cliniques selon le lot (critère 1).

(Khi-2 : entre le lot A et le lot C $p=0,069$; pour le reste : $p>0,1$).

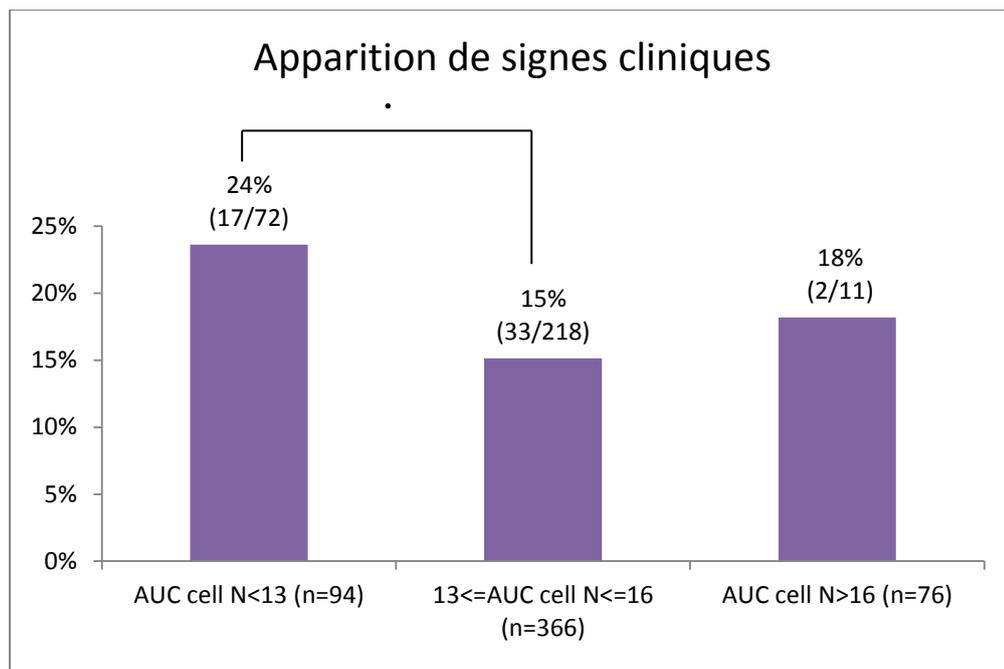


Figure 117 : Taux d'apparition de signes cliniques selon l'aire sous la courbe des cellules sur la campagne N (critère 1).

(Khi-2 : entre les groupe 1 et le groupe 2 : $p=0,099$; pour le reste : $p>0,1$).

○ *Risque relatif pour chaque facteur*

Pour les cinq facteurs cités précédemment, nous avons calculé le risque relatif entre les différentes classes (Figure 118). Chaque risque relatif est donné par rapport au groupe de référence ayant le pourcentage d'apparition de signes cliniques le plus faible (en vert sur la Figure 118). Seuls les risques présentés en rouge sont significatifs. Nous remarquons ainsi que le groupe d'hémi-mamelles non traitées présente 1,71 fois plus de risque de déclencher l'apparition de signes cliniques en début de campagne N+1 que le groupe des traitées. Concernant le rang de lactation, les brebis de rang 1 ont 2,25 fois plus de risque que les brebis de rang 2. La date de mise bas à la campagne N apparaît aussi comme un facteur de risque puisque les brebis du lot 3 ont 5,28 fois plus de risque de voir apparaître des signes cliniques que les brebis ayant mis bas au moment du pic d'agnelage (lot 1).

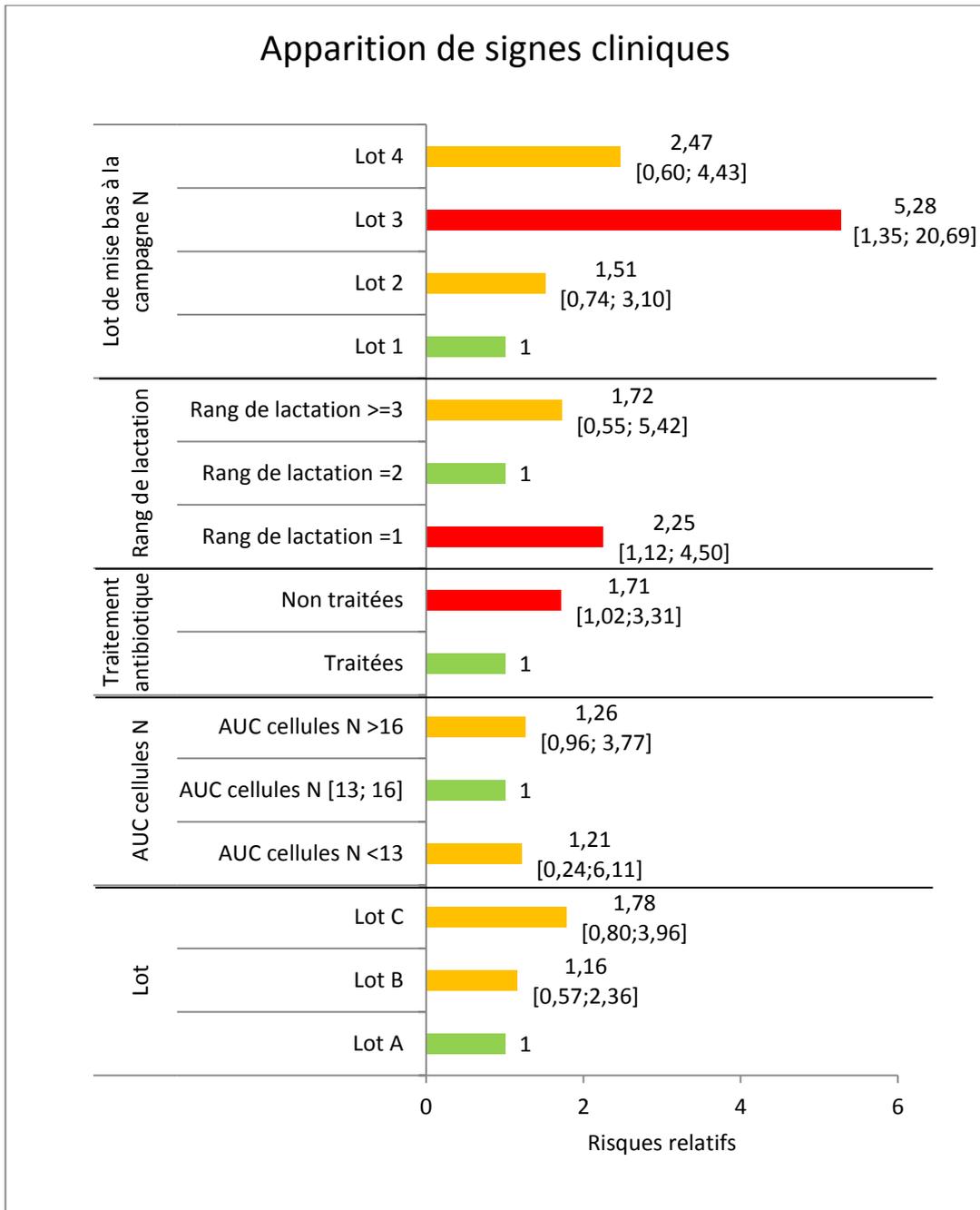


Figure 118 : Odds ratio associés à l'apparition de signes cliniques (critère 1).

2. Facteurs associés à l'inflammation mammaire (critère 4)

a. Facteurs associés à l'élimination de l'inflammation

- *Identification des facteurs significativement associés*

Seul le taux d'urée du lait présente une différence significative sur l'élimination de l'inflammation pour le critère cellulaire (Figure 119). Les hémimamelles avec un taux d'urée élevé (>375mg/L) ont un taux d'élimination de l'inflammation plus faible que les autres.

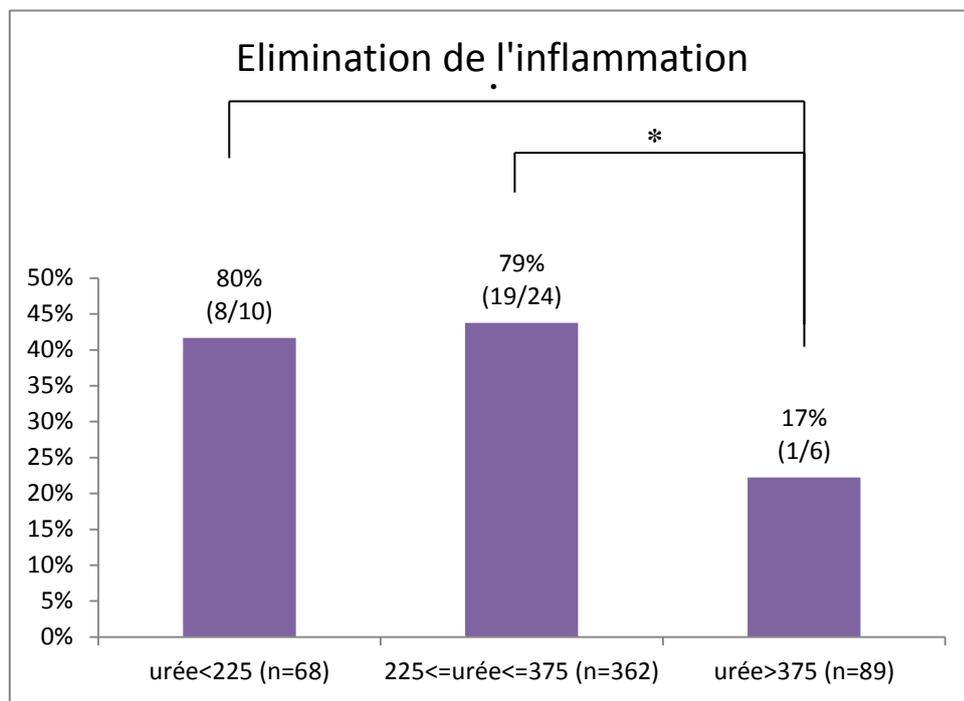


Figure 119 : Taux de nouvelles inflammations selon le taux d'urée (critère 4).

(Khi-2 de Yates : entre le groupe 1 et le groupe 2 : $p=0,050$; entre le groupe 2 et le groupe 3 : $p=0,019$; pour le reste : $p>0,1$).

- *Risque relatif pour chaque facteur*

Nous avons calculé les risques relatifs en fonction du taux d'urée par hémimamelle. Les hémimamelles avec un taux d'urée <225mg/L présentent 4,41 [0,14 ; 13,75] fois plus de chance d'éliminer l'inflammation que celles avec un taux d'urée >375mg/L. Les hémimamelles dont le taux d'urée est compris entre 225mg/L et 375mg/L présentent 4,19 [0,13 ;

13,89] fois plus de chance d'éliminer l'inflammation que celles avec un taux d'urée >375mg/L.

b. Facteurs associés à l'apparition d'une nouvelle inflammation

○ Identification des facteurs significativement associés

Trois facteurs présentent une différence significative au seuil de 0,1 pour le pourcentage de nouvelles infections : le lot de mise bas à la campagne laitière N (comme pour le critère 1), le taux d'urée par héli-mamelle et l'aire sous la courbe de la production laitière au cours de la campagne laitière N. Les héli-mamelles de brebis ayant mis bas au moment du pic d'agnelage ont le taux de nouvelles inflammations le plus bas (cette tendance était similaire pour le critère 1). La différence est significative au seuil de 0,1 entre le lot 1 et le lot 4 ($p=0,099$) (Figure 120).

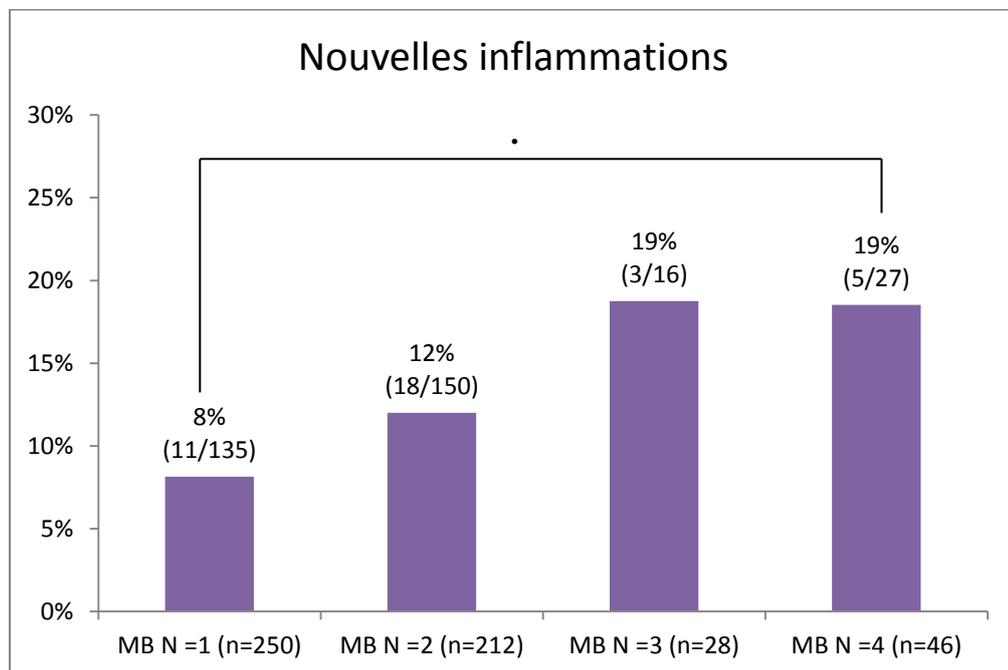


Figure 120 : Taux de nouvelles inflammations selon le lot de mise bas à la campagne laitière N (critère 4).

(Khi-2 de Yates: entre les brebis de rang 1 et les brebis de rang 2 : $p= 0,099$; pour le reste, $p>0,1$).

Le taux d'urée est également un facteur influençant le taux de nouvelles inflammations. Les hémimamelles avec un taux d'urée $<225\text{mg/L}$ au tarissement ont un taux de nouvelles inflammations de 18% contre 4% pour celles avec un taux $>375\text{mg/L}$. La différence est significative au seuil de 0,1 ($p=0,096$) (Figure 121). Ainsi, les hémimamelles avec un taux d'urée élevé présentent à la fois un taux d'élimination de l'inflammation et un taux de nouvelles inflammations faibles.

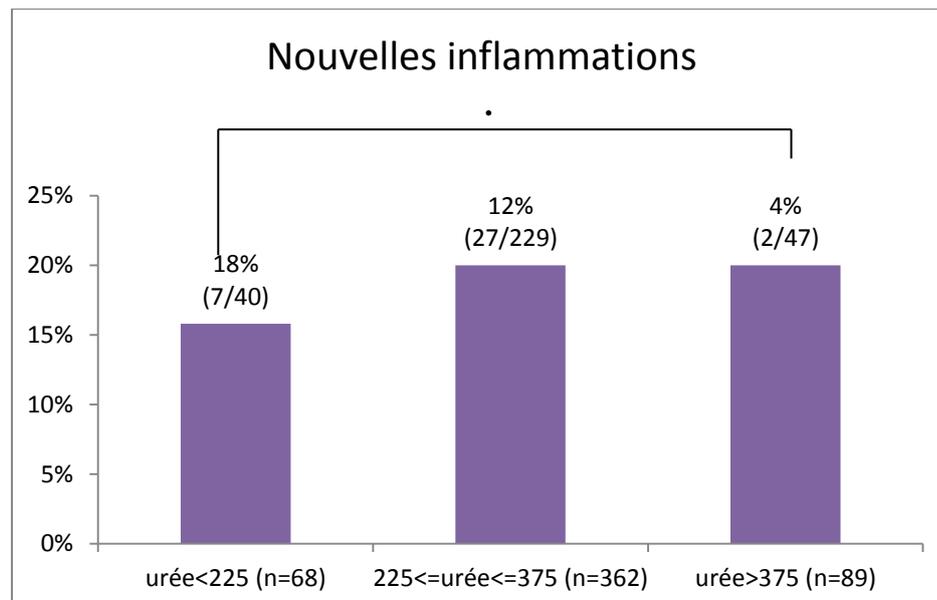


Figure 121 : Taux de nouvelles inflammations selon le taux d'urée (critère 4).
(Khi-2 de Yates: entre le groupe 1 et le groupe 3 : $p= 0,096$; pour le reste, $p>0,1$).

Concernant la production laitière, nous remarquons le taux de nouvelles inflammations va décroissant avec l'aire sous la courbe de la production laitière. Les brebis avec une aire sous la courbe élevée ont un taux de nouvelles inflammations plus faible que celles avec une aire sous la courbe $< 5,1$ (6% contre 17%). La différence est significative au seuil de 0,1 ($p=0,091$) (Figure 122).

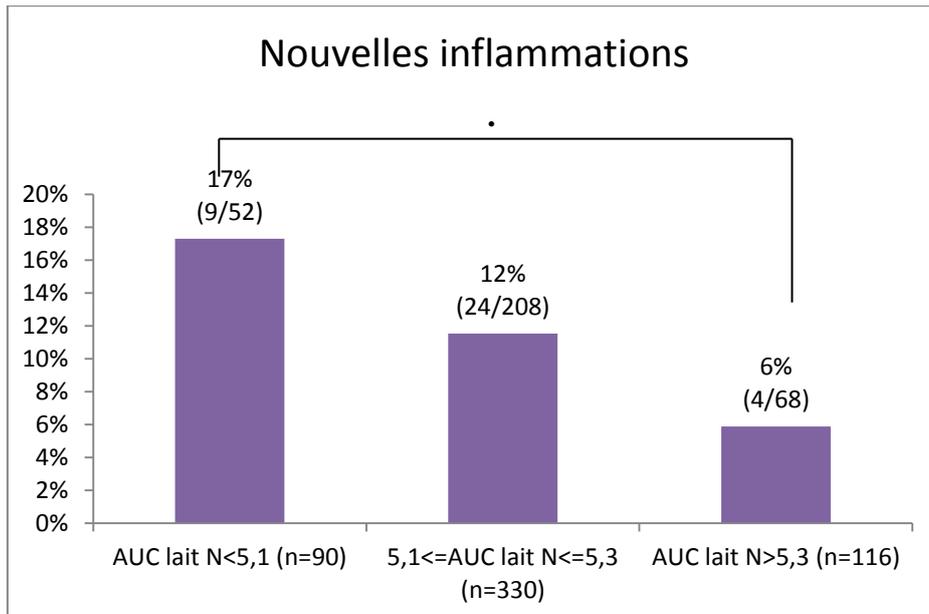


Figure 122 : Taux de nouvelles inflammations selon l'aire sous la courbe de la production laitière au cours de la campagne laitière N (critère 4).
 (Khi-2 de Yates: entre le groupe 1 et le groupe 3 : $p = 0,091$; pour le reste, $p > 0,1$).

○ *Risques relatifs pour chaque facteur*

Pour les cinq facteurs cités précédemment, nous avons calculé le risque relatif entre les différentes classes (Figure 123). Nous pouvons remarquer que les hémimamelles avec un taux d'urée faible (inférieur à 225mg/L) ont 6,08 fois plus de risque de développer une nouvelle inflammation à la mise bas que les hémimamelles avec un taux d'urée élevé (>375mg/L).

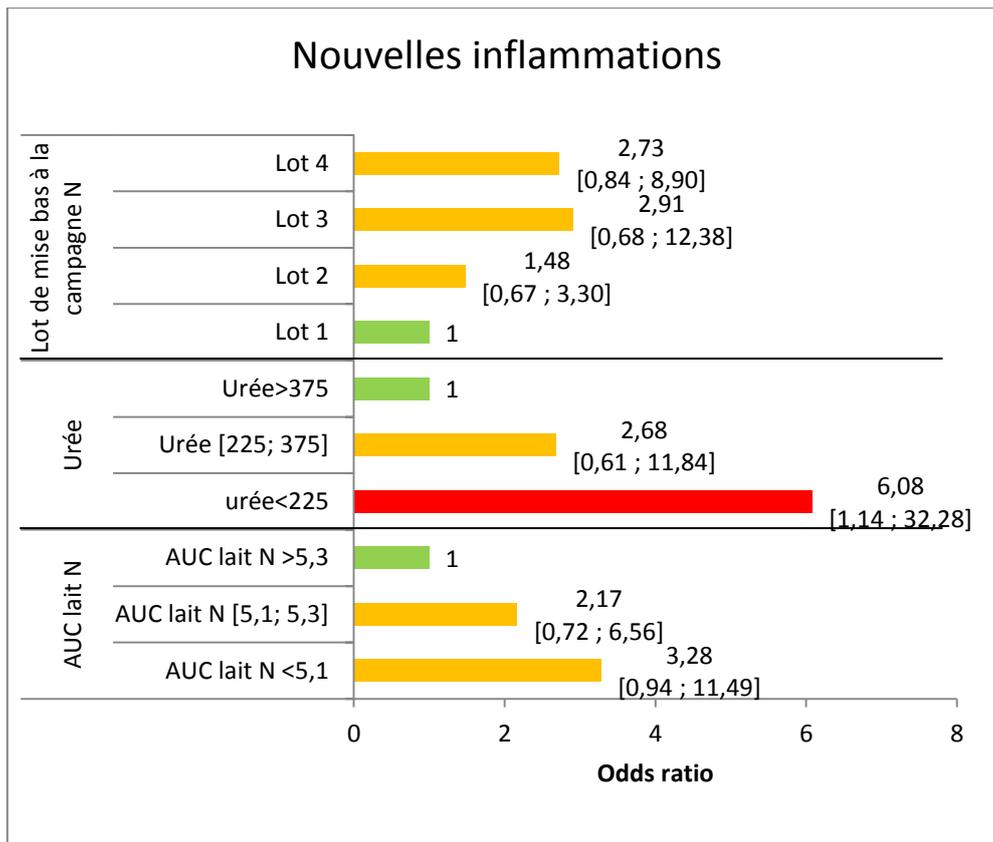


Figure 123 : Odds ratios associés aux nouvelles inflammations (critère 4).

3. Facteurs associés à l'excrétion galactophore (critère 6)

a. Facteurs associés à l'arrêt de l'excrétion

- *Identification des facteurs significativement associés*

Trois facteurs ont une influence sur la cessation de l'excrétion pour le critère 6 : l'index cellulaire, l'ancienneté et la durée de l'infection au cours de la campagne laitière N.

Les différences ne sont significatives au seuil de 0,05 que pour l'ancienneté de l'infection : les brebis dont l'infection a débuté après la mise à l'herbe présentent un taux de cessation de l'excrétion plus élevé que celles pour lesquelles l'infection est plus ancienne (Figure 124).

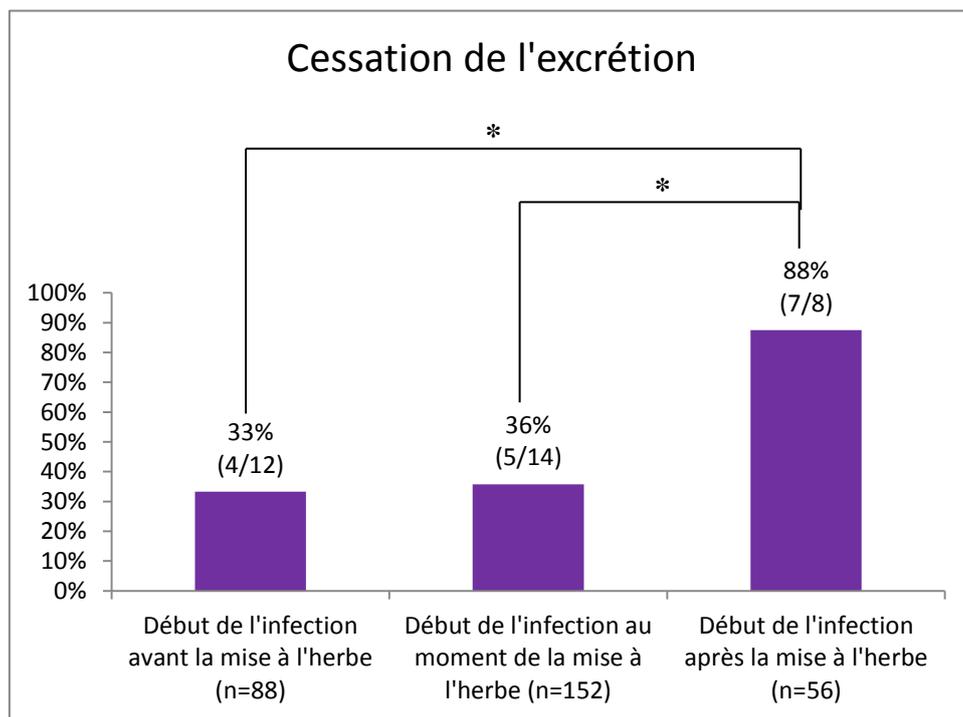


Figure 124 : Taux de cessation d'excrétion selon le début de l'infection au cours de la campagne N (critère 6).

(Khi-2 de Yates: entre le groupe 1 et le groupe 3 : $p=0,017$ entre le groupe 2 et le groupe 3 : $p=0,019$; pour le reste, $p>0,1$).

D'autre part, lorsque l'infection a duré moins d'un mois, le taux de cessation d'excrétion est meilleur. La différence est significative au seuil de 0,1 entre les brebis pour lesquelles l'infection duré moins d'un mois, et celles pour lesquelles elle a duré entre 2 et 3 mois ($p=0,083$) (Figure 125).

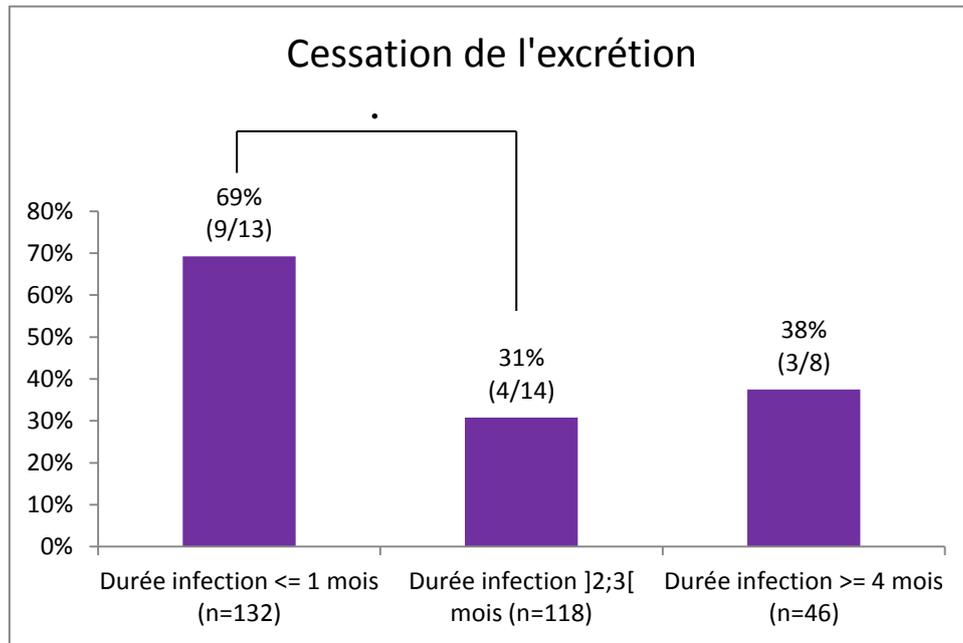


Figure 125 : Taux de cessation d'excrétion selon la durée de l'infection au cours de la campagne N (critère 6).

(Khi-2 de Yates: entre le groupe 1 et le groupe 2 : $p= 0,083$; pour le reste, $p>0,1$).

L'index cellulaire est également significatif au seuil de 0,1. Les brebis avec un index cellulaire $< -0,4$ présentent un taux de cessation d'excrétion significativement plus faible que celles avec un index compris entre $-0,4$ et $0,6$ ($p=0,099$) (Figure 126).

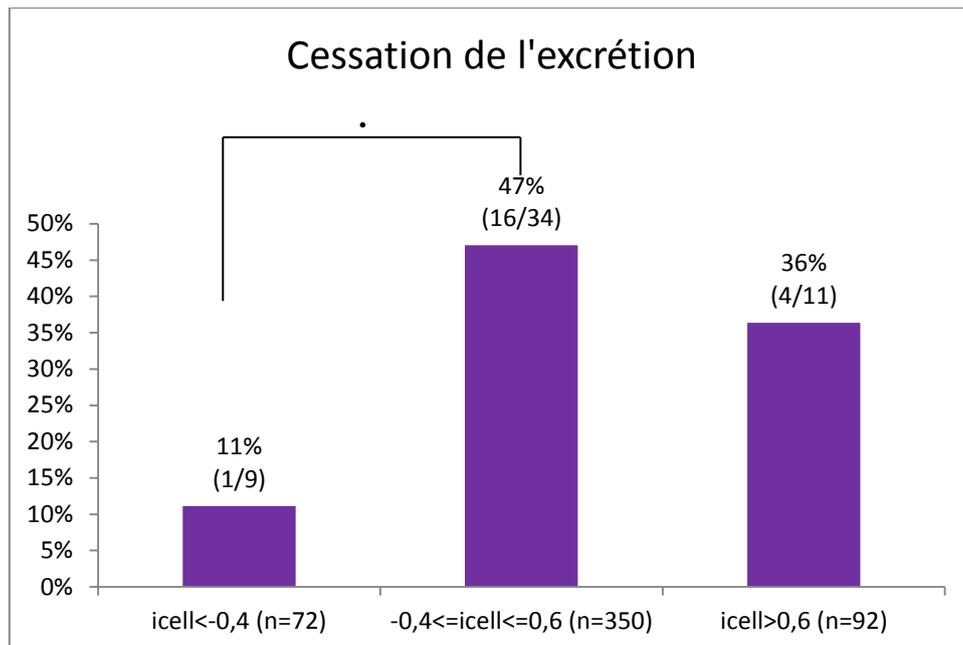


Figure 126 : Taux de cessation d'excrétion selon l'index cellulaire (critère 6).
 (Khi-2 de Yates: entre le groupe 1 et le groupe 2 : $p=0,099$; pour le reste, $p>0,1$).

- *Risques relatifs pour chaque facteur*

Nous avons calculé des odds ratios pour les trois facteurs ayant une influence sur la cessation de l'excrétion.

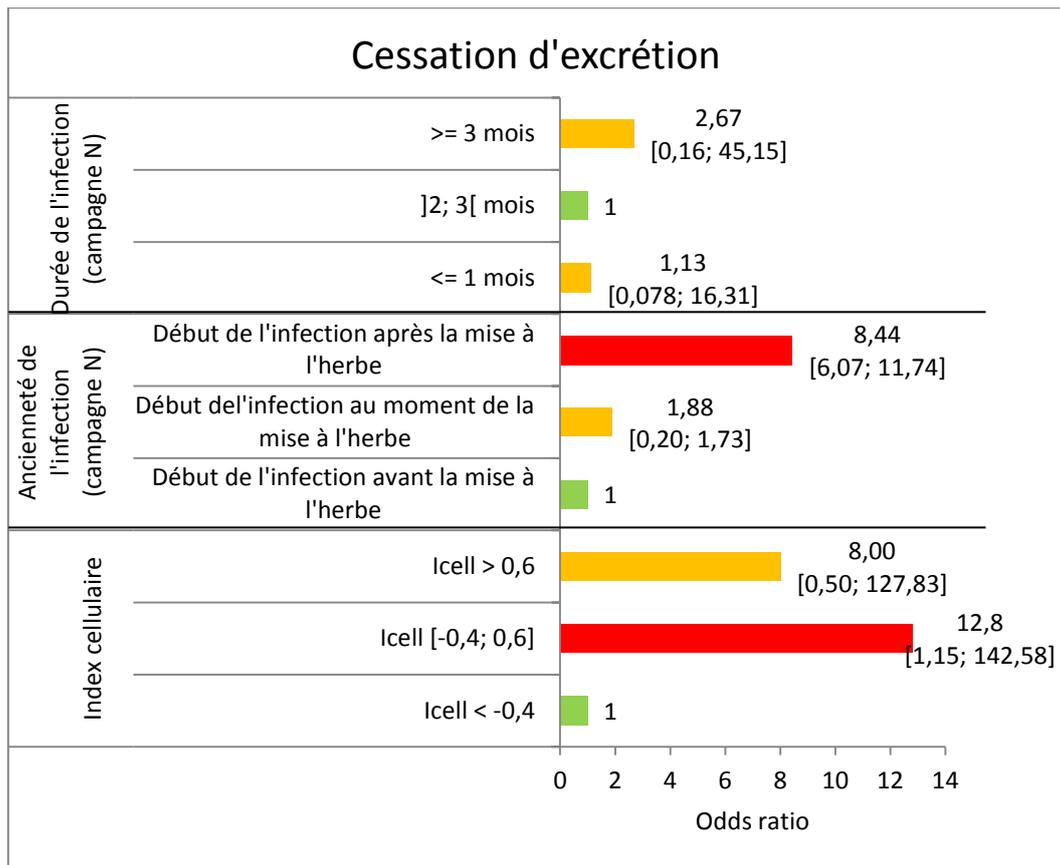


Figure 127 : Odds ratios associés à la cessation d'excrétion (critère 6).

b. Facteurs associés à une nouvelle excrétion

- *Identification des facteurs significativement associés*

Si nous nous intéressons aux pourcentages de nouvelles excréctions, plusieurs facteurs présentent une différence significative : le traitement antibiotique, le lot de mise bas à la campagne N+1, l'aire sous la courbe des comptages cellulaires au cours de la campagne N et pour les 3 derniers contrôles laitiers de la campagne N.

Les héli-mamelles traitées présentent un taux de nouvelles excréctions significativement plus faible que celles non traitées au seuil de 0,1 ($p=0,061$) (Figure 128).

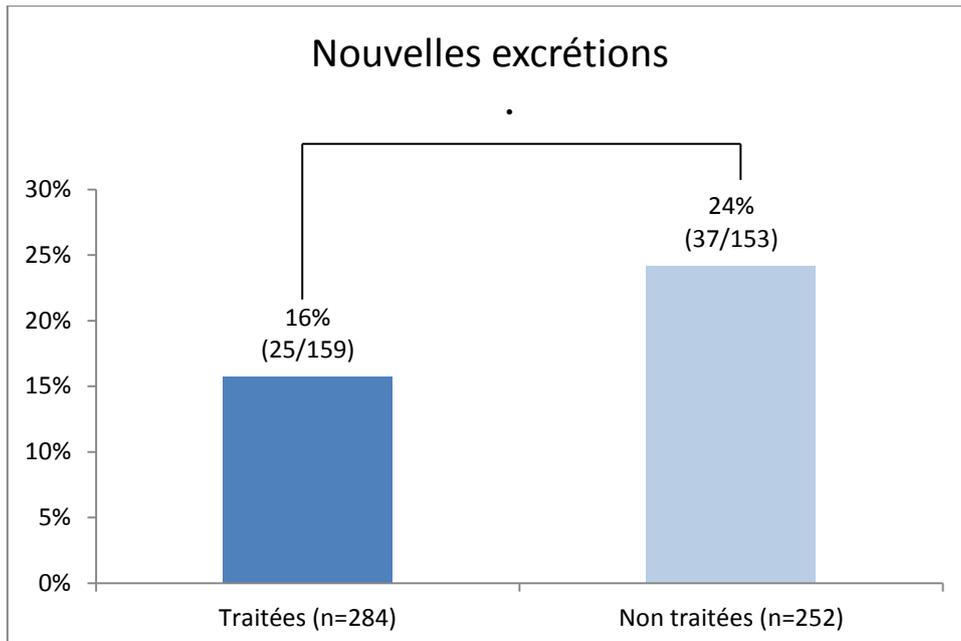


Figure 128 : Taux de nouvelles excréments selon le traitement (critère 6).
(Khi-2 : $p=0,061$).

Le lot de mise bas à la campagne N+1 apparaît aussi comme un facteur associé à la prévention. Les brebis du lot 2 ont un taux de nouvelles excréments significativement plus élevé que celles du lot 1 et du lot 3 ($p=0,0010$ et $p=0,030$ respectivement) (Figure 129).

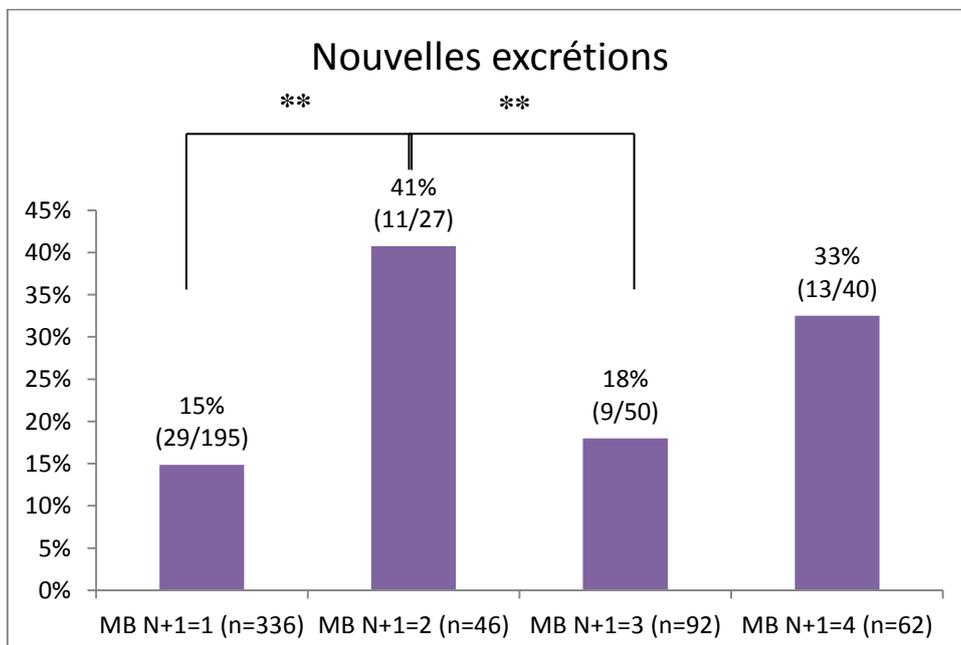


Figure 129 : Taux de nouvelles excréments selon le lot de mise bas à N+1 (critère 6).
(Khi-2 : entre le lot 1 et le lot 2 : $p=0,0010$; entre le lot 2 et le lot 3 : $p=0,0030$; pour le reste, $p>0,1$).

Si nous regardons les aires sous la courbe des comptages cellulaires, nous constatons que les brebis avec une aire faible ont un taux de nouvelles excréctions plus important que les autres ($p=0,0034$ et $p=0,049$ respectivement) (Figure 130).

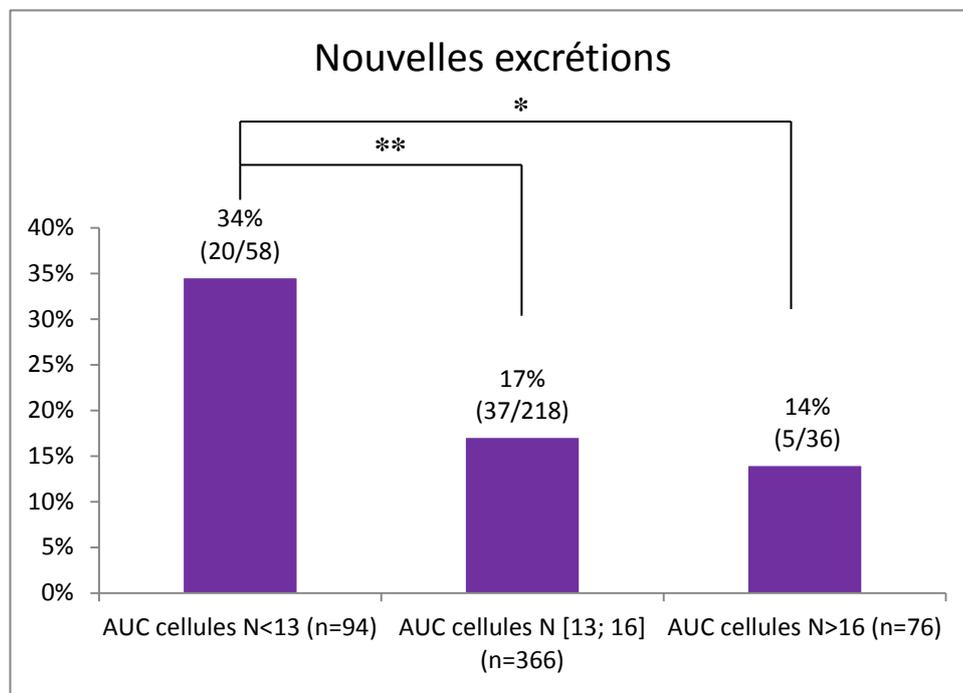


Figure 130 : Taux de nouvelles excréctions selon l'aire sous la courbe des comptages cellulaires au cours de la campagne N (critère 6).

(Khi-2 : entre le groupe 1 et le groupe 2 : $p= 0,0034$.)

Khi-2 de Yates : entre le groupe 1 et le groupe 3 : $p=0,049$; pour le reste, $p>0,1$).

De la même façon, l'aire sous la courbe des comptages cellulaires des 3 derniers contrôles laitiers est associée au taux de nouvelles excréctions. Les brebis avec une aire sous la courbe faible ont un taux de nouvelles excréctions plus élevé que les autres ($p=0,072$ et $p=0,011$ respectivement) (Figure 131).

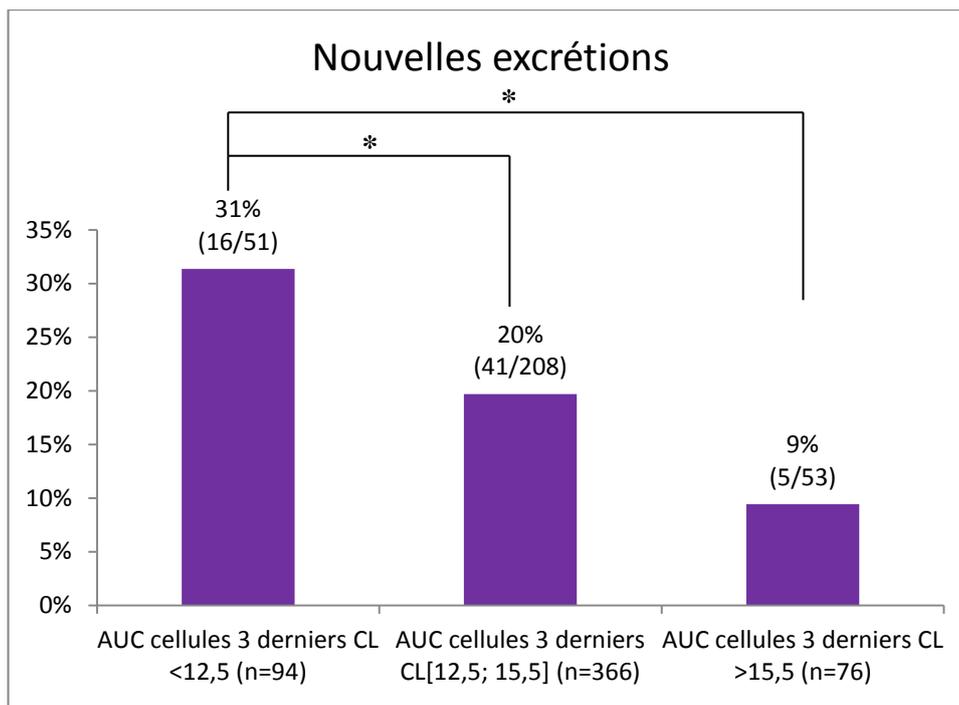


Figure 131 : Taux de nouvelles excréctions selon l'aire sous la courbe des comptages cellulaires des 3 derniers contrôles laitiers (critère 6).

(Khi-2 : entre le groupe 1 et le groupe 2 : $p=0,0072$.)

Khi-2 de Yates : entre le groupe 1 et le groupe 3 : $p=0,011$; pour le reste, $p>0,1$).

○ *Risques relatifs pour chaque facteur*

Nous avons calculé des odds ratios pour les facteurs ayant une influence sur l'apparition de nouvelles excréctions.

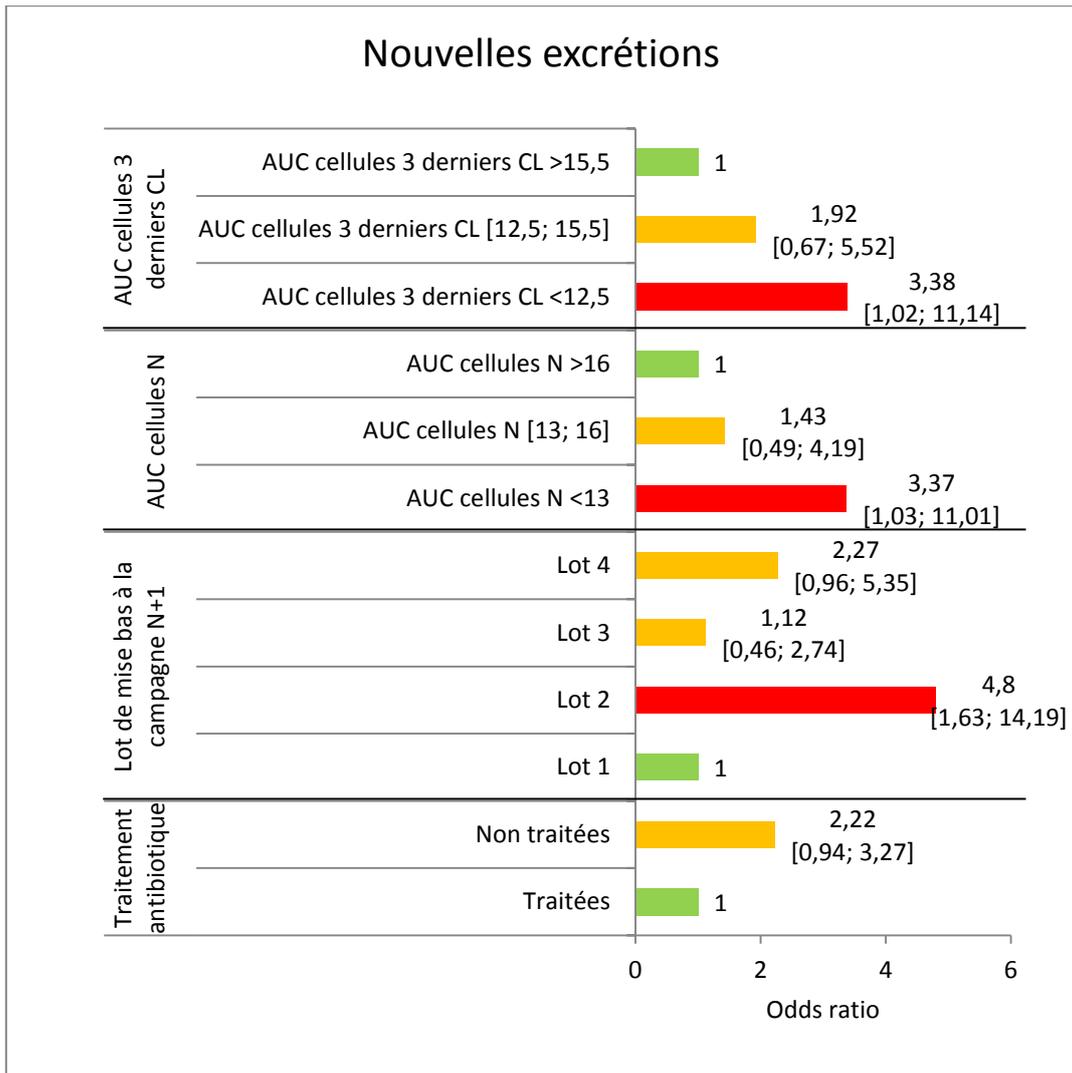


Figure 132 : Odds ratios associés aux nouvelles excrétions (critère 6).

4. Influence de l'hémi-mamelle contro-latérale

Nous nous sommes intéressés aux hémi-mamelles non traitées et à l'influence de l'hémi-mamelle contro-latérale, elle-même traitée ou pas. Pour cela, nous avons comparé le pourcentage de nouvelles infections entre les hémi-mamelles non traitées avec l'hémi-mamelle contro-latérale non traitée, et les hémi-mamelles non traitées avec l'hémi-mamelle contro-latérale traitée (Figure 133). Pour les critères 4 et 6, nous remarquons que le pourcentage de nouvelles infections est plus faible lorsque l'hémi-mamelle contro-latérale est traitée. La différence est significative pour le critère 6 ($p=0,072$).

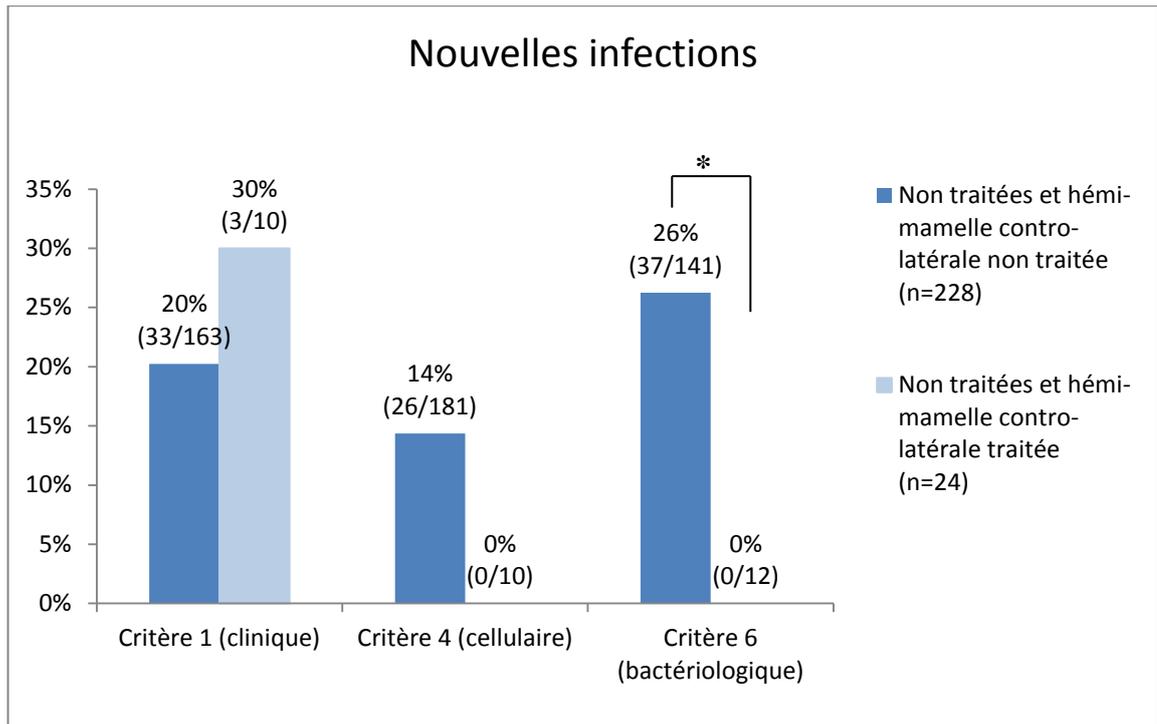


Figure 133 : Pourcentage de nouvelles infections en fonction de l'hémi-mamelle controlatérale (traitée ou non) (critères 1, 4 et 6).

(Khi-2 de Yates : pour le critère 1, $p=0,75$; pour le critère 4, $p=0,32$; pour le critère 6, $p=0,072$).

DISCUSSION

La présente discussion portera essentiellement sur les parties pour lesquelles l'ensemble des résultats étaient disponibles (évaluation de l'efficacité des traitements à l'aide des comptages cellulaires et de l'expression clinique, puis étude des facteurs associés). Les résultats de PCR, en revanche, seront discutés plus rapidement compte tenu du caractère incomplet, à l'heure où nous imprimons, des données vis-à-vis des agents autres que *Staphylococcus spp.* et des espèces de ce genre.

I. Discussion des matériels et des méthodes

Une recherche exhaustive (PubMed, décembre 2015) d'articles portant sur des essais d'évaluation de l'efficacité thérapeutique du traitement au tarissement chez les ovins montre que :

- un seul article a été publié sur le traitement sélectif au tarissement chez les ovins laitiers (GONZALO, 2004),
- dix-sept essais sur l'antibiothérapie hors lactation sans caractère sélectif ont été publiés (articles, thèses) chez les ovins laitiers, certains correspondant à plusieurs références. Les méthodes utilisées dans ces travaux, en élevages et/ou au laboratoire, sont souvent différentes les unes des autres, rendant difficile la comparaison avec notre essai (MARCO, 1994; ESNAL, 1994; LONGO, 1996; MARCO, 1999; LONGO, 2001; CHAFFER, 2003; GONZALO, 2004; BAREILLE, 2005a; BAREILLE, 2005b; MUNOZ BIELSA, 2005 ; CONTE, 2007; SHWIMMER, 2008; BOGOLIN, 2008; LINAGE, 2008; GONZALO, 2009; SPANU, 2011; PETRIDIS, 2012). Chez les ovins allaitants, huit articles ont été publiés, mais la problématique est différente. ; elle ne sera pas développée ici.

Les points discutés ci-dessous reprennent le plan du chapitre Matériels et méthodes.

1. Type d'essai

Méthodologiquement, notre essai présente quatre caractéristiques importantes.

Le caractère longitudinal de cette étude s'imposait puisqu'il s'agissait de suivre des brebis au cours du temps, pendant une première puis une seconde lactation. Nous avons évalué, au travers de paramètres physiologiques (lait), cliniques, cellulaires et bactériologiques, les périodes dites « à risque » (transitions lactation N-période sèche, puis période sèche-lactation N+1), mais également des périodes plus longues (lactations N et N+1). Ces dernières nous ont permis, d'une part, de caractériser les animaux et leurs performances préalablement au traitement (N), et de s'interroger sur les associations éventuelles entre ces caractères et les résultats des traitements. D'autre part, la lactation N+1 permet d'étudier les effets de l'antibiothérapie à moyen et long terme, en particulier sur la production laitière et les comptages cellulaires.

Le caractère comparatif de l'essai était également d'une absolue nécessité puisqu'il fallait comparer, à un échelon intra-troupeau, des lots d'animaux pour lesquels différentes stratégies devaient être testées :

- un traitement systématique ou exhaustif (concernant les deux hémi-mamelles de toutes les brebis) ; cette approche correspond à l'une de celles qui sont observées en élevages ovins laitiers intensifs, en particulier après l'instauration d'un paiement différentiel du lait à la qualité cellulaire (1993 pour le bassin de Roquefort, 2012 pour le bassin des Pyrénées-Atlantiques). Compte tenu des prévalences moyennes de mammites subcliniques observées dans les différents bassins laitiers français, comprises entre 15 et 35% par campagne (LAGRIFFOUL, 2005), cette stratégie repose fondamentalement sur le ciblage d'une forte proportion de glandes mammaires non infectées : elle suppose donc une efficacité préventive validée. Elle implique par ailleurs une forte consommation d'antibiotiques puisque non seulement toutes les hémi-mamelles sont traitées, mais encore la posologie « vache » est utilisée (une seringue par côté)
- un traitement sélectif à l'échelon des mamelles : nous avons choisi ici d'appliquer cette « sélection » de la cible du traitement aux mamelles infectées. Les raisons en

sont les suivantes : tout d'abord, l'élimination des infections existantes constitue une priorité du traitement au tarissement chez les ruminants, et revêt une efficacité avérée chez les petits ruminants (BERGONIER, 2003). D'autre part réaliser un choix sélectif en vue de prévenir nécessiterait une égale efficacité chez les petits ruminants, non démontrée (PETRIDIS, 2012) et aussi une définition de brebis « à risque » (notion mal définie à ce jour chez les petits ruminants en matière de prédiction des infections mammaires). Le traitement sélectif a donc porté ici sur les deux hémi-mamelles de l'ensemble des brebis présumées « infectées » sur la base des comptages cellulaires et des examens cliniques. Cette stratégie, appliquée en élevages ovins ou caprins, paraît à la fois techniquement réalisable (comptages cellulaires au contrôle laitier et/ou examens cliniques mammaires) et pertinente sur le plan de la limitation des volumes d'antibiotiques

- un traitement sélectif à l'échelon des hémi-mamelles : cette approche consiste à réduire encore le nombre d'hémi-mamelles traitées en ciblant uniquement les glandes infectées (pas de traitement des glandes contro-latérales). Plus avantageuse sur le plan de la réduction des coûts, des volumes d'antibiotiques et des risques d'infections induites (pathogènes opportunistes), cette stratégie, utilisable et utilisée chez la vache, ne correspond pas aujourd'hui à un objectif opérationnel de court terme chez les petits ruminants : son objectif est d'aller « jusqu'au bout » d'une démarche de réduction sélective des traitements en profitant des conditions d'évaluation comparative du présent essai contrôlé.

La bibliographie ovine en matière de traitement sélectif au tarissement ne comprend qu'un seul article (GONZALO, 2004). Celui-ci a également utilisé l'équivalent de nos lots de traitement exhaustif et sélectif à l'échelon des hémi-mamelles, mais a utilisé comme troisième lot un groupe contrôle non traité. Dans notre cas, nous avons jugé ce dernier groupe inutile car l'évaluation de l'efficacité du traitement intra-mammaire a déjà été conduite à plusieurs reprises : ses performances curatives et préventives par rapport à un lot témoin non traité sont connues (BERGONIER, 2010).

La bibliographie bovine est plus abondante. Il ressort de certaines publications, entre autres, que le résultat de la comparaison entre traitements systématique (« blanket ») et sélectif dépend en particulier de l'échelon mammaire ou hémimammaire auquel ce dernier est appliqué (HALASA, 2009). Notre choix de protocole à trois lots s'imposait donc d'autant plus. Les autres types de protocoles utilisés chez la vache étaient les suivants :

- sélection des animaux à traiter, en comparaison d'une antibiothérapie exhaustive, à l'aide d'analyses bactériologiques conventionnelles ou simplifiées (Petrifilms®) (CAMERON, 2014)
- utilisation des comptages cellulaires associés aux antécédents de mammites, et traitement après tirage au sort d'une partie des vaches à comptages bas (RAJALA-SCHULTZ, 2011)
- traitement pour chaque vache de deux quartiers, les deux autres constituant des témoins non traités (SCHERPENZEEL, 2014).

Par ailleurs, l'essai mis en œuvre a été « uni-centrique » : il a été réalisé dans un seul troupeau, non commercial, compte tenu de la lourdeur des examens cliniques et des prises d'échantillons régulières, de la constitution de lots (non physiquement séparés), des deux types d'antisepsie des trayons,... Cet essai doit donc être considéré comme un premier travail, approfondi, qui devra donner lieu à des études à réaliser dans plusieurs élevages commerciaux et dont le protocole devra être allégé (lait, comptages cellulaires et examens mammaires plus que bactériologie, suivis plus courts,...).

Enfin, l'échantillonnage pour les trois lots a été stratifié puis randomisé. Il était en effet essentiel de constituer dès le départ des lots les plus proches possibles sur le plan des valeurs prises par :

- les caractéristiques des animaux : rang de lactation, conformation mammaire, divers index,...
- les performances zootechniques : production laitière, durée de lactation, nombre d'agneaux allaités, fertilité à l'insémination donc période de mise bas,...

- les prévalences ou incidences de mammites subcliniques (comptages cellulaires), de mammites cliniques chroniques (signes cliniques),...

La stratification soigneuse du troupeau par rapport à l'ensemble de ces paramètres disponibles, qu'ils soient génétiques ou phénotypiques, nous a permis de construire et de valider des lots dont les moyennes, médianes et variabilité sont non significativement différentes (ANOVA).

Idéalement, d'autres paramètres permettant de caractériser la réceptivité, la sensibilité, le fond génétique ou encore les performances des brebis, auraient pu être intégrés : cinétiques d'éjection du lait, fonctions sphinctériennes (latence entre stimulation à la traite et premier lait), statuts oligo-vitaminiques ou immunitaires,... Ces données n'étaient pas disponibles et/ou ne pouvaient être incluses dans nos investigations.

Dans la bibliographie chez les ovins laitiers, seuls CHAFFER *et al.* (2003) utilisent une stratification avant tirage au sort (85 brebis seulement). Parmi les autres, les lots de l'étude de MARCO *et al.* (1994) souffrent d'une différence significative de prévalence entre lots avant traitement ($p < 0,001$).

2. Sélection de l'élevage et des animaux

a. Elevage

Le choix de l'élevage ovin de La Cazotte, adhérent au contrôle laitier officiel, repose sur les caractéristiques et avantages suivants :

- représentativité par rapport au bassin laitier de Roquefort : celle-ci touche autant la conduite de troupeau, que la traite ou la bergerie, les pratiques d'allaitement et de tarissement, ou encore la prévalence des mammites cliniques. L'étiologie des infections mammaires subcliniques montre, comme dans la majorité des troupeaux ovins, une nette prédominance des staphylocoques (CONTRERAS, 2007),

- possibilité de mettre en œuvre un suivi longitudinal assez lourd sur le plan de la nature (prélèvements aseptiques,...), de la répétition (jusqu'à 12 séries de comptages cellulaires par brebis en lactation N,...) et du calendrier (J_0 pour toutes les brebis,...) des prélèvements et examens, ou encore sur le plan de l'antisepsie des trayons (réitérée sur de longues périodes),
- niveau sanitaire correspondant à l'objectif d'évaluation prioritaire de l'effet préventif de l'antibiothérapie : pour avoir un effectif important de brebis initialement saines (fin de lactation N), il convenait de choisir un troupeau présentant une prévalence de mammites faible (comptages cellulaires de tank inférieurs à 600 000 cellules/ml, moyenne du bassin de Roquefort),
- enfin, d'autres enregistrements spécifiques à La Cazotte sont (respectivement devaient être) disponibles : pointages morphologiques des mamelles, spectres MIR ('moyen infra-rouge) du lait, mesures liées aux essais nutritionnels (pesées,...),... (respectivement cinétiques individuelles d'éjection du lait en Lactocorder[®] LCS).

Si des inconvénients liés à ce choix existent, nous pourrions citer l'effectif (un peu restreint pour ce type d'essai), ou encore un certain étalement des mises bas ayant quelque peu gêné la mise en place d'une partie de l'antisepsie des trayons. Ces limites sont cependant tout à fait mineures et/ou compensées.

b. Lots et animaux

En ce qui concerne les animaux, les critères de non inclusion et d'exclusion ont été limités de manière à ne pas trop réduire l'effectif expérimental. Les critères de choix des brebis ou hémi-mamelles à traiter ont reposé essentiellement sur les comptages cellulaires et les examens cliniques. Idéalement, des analyses bactériologiques auraient été souhaitables à ce stade ; nous nous serions cependant heurtés d'une part aux inévitables discordances (partielles) entre bactériologie et cellularité du lait et, d'autre part, aux limites financières liées à la réalisation de plusieurs PCR sur un nombre aussi important d'animaux.

En ce qui concerne les lots, dont les modalités de constitution ont été rappelées ci-dessus, le point important était de ne pas constituer de groupes physiquement séparés, en bergerie et à la traite (pas d'ordre de traite) et de ne pas marquer les brebis, ce qui a été possible.

3. Recueil des données

a. Données cliniques

○ *Modalités des examens cliniques*

Examens cliniques mammaires

Les inspections mammaires ont porté sur la conformation, les déséquilibres de pis (asymétrie) et les trayons. Les deux premiers points sont de loin les plus importants, les thélites traumatiques chroniques liées à la traite étant très rares chez les ovins laitiers. Ces deux postes d'inspection fournissent des résultats reproductibles et exacts, si ce n'est précis, compte tenu de la grille de codification utilisé et validée auparavant (MALINGUE, 2006).

Les palpations mammaires ont porté sur les nœuds lymphatiques supra-mammaires et, par ailleurs, sur le parenchyme de façon à enregistrer et quantifier la présence d'abcès (très rares), d'indurations et de kystes.

Pour ne retenir que les symptômes liés à une infection bactérienne, ces examens ont permis au total de proposer une caractérisation et une gradation des lésions chroniques au travers de l'enregistrement des déséquilibres, des abcès et des indurations mammaires (mammite chronique). Par ailleurs, les observations portant sur le caractère réactionnel des nœuds lymphatiques pouvaient traduire une mammite chronique ou aiguë. Les autres signes aigus (signes cardinaux de l'inflammation) ont été, comme décrit dans la littérature, absents en fin de lactation et très rares en début de lactation (BERGONIER, 2003).

Le travail de thèse vétérinaire cité ci-dessus (MALINGUE, 2006) avait permis de préciser les paramètres de répétabilité et de reproductibilité de ces différents postes de

palpation. Ces coefficients présentent les valeurs les moins élevées pour l'évaluation précise, quantifiée, des nœuds lymphatiques supra-mammaires. Par exemple, les coefficients de corrélation entre cliniciens étaient de 0,8 pour les déséquilibres mammaires, de 0,7 pour les kystes, de 0,6 pour les abcès et de 0,5 pour les nœuds lymphatiques. Précisons que ces résultats, et les nôtres, sont relatifs à des grilles de codification très précises, utilisant trois à six grades par poste. Nous avons tenu compte de cette relative difficulté en comparant les enregistrements des deux cliniciennes principales sur les mêmes brebis (reproductibilité). De plus, dans la valorisation sous forme de critères des données cliniques élémentaires, différents seuils et différents statuts (positif, douteux, négatif) ont été utilisés afin de majorer la fiabilité de la caractérisation finale.

Il n'existe quasiment pas de publications traitant de ce sujet chez les ovins.

Examens cliniques extra-mammaires

L'ensemble des troubles cliniques a été enregistré en plus des examens systématisés portant sur la note d'état corporel, les boiteries et la température rectale. Les incidences cliniques ont été très faibles.

- *Calendrier des examens cliniques*

Fin de lactation (N)

Deux examens cliniques ont été réalisés à la fin de la campagne N : un examen à J_{FL} afin d'évaluer le statut clinique des mamelles à la fin de la livraison et de contribuer à constituer les lots, et un examen à J_T juste avant d'effectuer le traitement antibiotique intra-mammaire.

Idéalement, un examen plus précoce (avril ou mai) aurait été nécessaire afin d'affiner la question de l'ancienneté des mammites, paramètre identifié comme significatif dans l'étude des facteurs associés à l'efficacité.

Dans la littérature, les auteurs rapportent un nombre d'examens cliniques avant tarissement allant de zéro à deux (CONTE, 2007).

Début de lactation (N+1)

Nous avons également prévu deux séries d'examens cliniques : à J₀ et J₄. L'examen à J₀ a été réalisé le jour de la mise bas, avant la tétée des agneaux lorsque cela était possible. L'examen clinique à J₄ devait être réalisé quatre jours après la mise bas, avant la « repasse ». Cet examen n'a pu être réalisé pour des raisons logistiques : manque de temps pour les premières mises bas très regroupées.

Une ou deux séries supplémentaires auraient donc été souhaitables pour notre étude.

Dans la littérature, les auteurs rapportent un nombre d'examens cliniques après la mise bas allant de zéro à un (CONTE, 2007; BAREILLE, 2005b).

b. Données cellulaires

○ *Modalités de prise d'échantillons et technique analytique*

Les prises d'échantillons pour comptages cellulaires ont été de deux ordres :

- au contrôle laitier, classiquement, les prélèvements ont porté sur le lait des deux héli-mamelles et sur l'ensemble de la traite
- les prélèvements par héli-mamelle ont en revanche porté sur la première fraction (25 premiers millilitres avant prélèvement aseptique). Une légère majoration des valeurs par rapport au lait de traite peut exister dans ce cas (PERIS, 2003).

Dans le premier cas, nous avons appliqué les recommandations de l'International Dairy Federation (IDF-FIL (International Dairy Federation - Fédération Internationale de Laiteries), 1991). Elles ont été associées à celles du rapport final du programme européen « Stratégies de contrôle en fermes des comptages de cellules somatiques du lait de brebis et de

chèvre » (BERTHELOT, 2003, contrat européen FAIR CT 095-0881), pour les particularités des petits ruminants. La représentativité est bonne, ce qui est moins vrai pour les prélèvements par hémi-mamelles. Ces derniers résultats ont donc été considérés avec prudence et de manière séparée des résultats des contrôles laitiers.

La technique a toujours été de type opto-fluoro-électronique, mise en œuvre au LIAL Massif central dans les 24 à 48h. Les valeurs de appareils de ce type sont moins fiables à partir de 2.10^6 cell/ml, quelque soit l'espèce (BERTHELOT, 2003, rapport final du contrat européen FAIR CT 095-0881).

- *Nombre de comptages cellulaires*

Les prélèvements du contrôle laitier officiel ont été réalisés tout au long des deux campagnes, nous permettant d'avoir des données sur une longue période et de manière continue. En tout nous avons eu à notre disposition 12 prélèvements du contrôle laitier à la campagne N et 10 à la campagne N+1. En plus du contrôle laitier nous avons réalisé deux prélèvements par hémi-mamelles à la fin de la campagne N et trois au début de la campagne N+1.

Tous les prélèvements de la campagne N ont été exploités lorsque nous avons choisi les brebis à traiter et pour la caractérisation du statut cellulaires. A la campagne N+1, nous avons utilisé les quatre premiers contrôles laitiers pour déterminer le statut infectieux à la mise bas.

Parmi les articles portant sur le traitement antibiotique au tarissement chez les ovins, seuls trois utilisent les comptages cellulaires à l'échelle de l'hémi-mamelle. Dans une étude, un prélèvement a été effectué au tarissement et deux à la mise bas, 15 à 20 jours *post partum* et 35 à 50 jours *post partum* (CHAFFER, 2003). Bareille et Cox ont effectué un prélèvement au tarissement et un prélèvement à la mise bas, 1 à 14 jours *post partum* (BAREILLE, 2005b). Linage et Gonzalo ont quant à eux effectué quatre prélèvements au total par hémi-mamelles, comme dans notre étude, avec deux prélèvements avant le tarissement et deux prélèvements après la mise bas (LINAGE, 2008). Les autres études à notre disposition

utilisent uniquement les comptages cellulaires à l'échelle de la mamelle (BOGOLIN I, 2008; SPANU, 2011; PETRIDIS, 2012) ou sur lait de tank (SHWIMMER, 2008; GONZALO, 2009). Le nombre de données cellulaires est souvent moindre que dans notre étude.

- *Calendrier des prélèvements*

Campagne N

Par brebis, les contrôles laitiers officiels ont été réalisés tous les 28 jours en moyenne, du 22 novembre 2013 (début de la livraison du lait à la laiterie) au 11 avril 2014. Les essais nutrition ont été réalisés entre deux contrôles laitiers officiels mais sur moitié moins de brebis seulement. Pour la campagne N nous avons donc des prélèvements par brebis tous les 14 jours. En plus de ces prélèvements, deux contrôles laitiers additionnels ont été réalisés dans le cadre de notre essai, à la fin de la campagne laitière (le 15 avril 2014 et 12 juin 2014).

Par héli-mamelles nous avons réalisé deux prélèvements de lait : le 25 mai 2014 (J_{FL}) et le 15 juillet 2014 (J_T). Ces prélèvements ont permis de compléter les prélèvements par brebis et de réduire le délai entre nos comptages cellulaires et le tarissement, permettant ainsi de mieux caractériser les brebis.

Campagne N+1

A la campagne N+1, les contrôles laitiers officiels ont été réalisés comme à la campagne N tous les 28 jours en moyenne et par brebis. En plus de ces prélèvements, nous avons prélevé du lait quatre jours, dix jours et quarante jours après la mise bas. Les prélèvements à J40 recoupent ceux réalisés le 22 novembre 2014 pour toutes les brebis qui ont mis bas au moment du pic de l'agnelage.

c. Données bactériologiques

- *Calendrier des prélèvements*

Nous avons réalisé quatre prélèvements bactériologiques au cours de notre étude :

- J_{FL} : un premier prélèvement a été réalisé un mois et demi avant le tarissement. Il est situé dans le dernier tiers de la lactation, et permet de détecter les germes présents en fin de campagne laitière.
- J_T : ce prélèvement détermine le statut bactériologique des héli-mamelles juste avant la mise en place du traitement antibiotique.
- J_0 : ce prélèvement est effectué idéalement au moment de la mise bas. Il est représentatif du statut des héli-mamelles en fin de période sèche, et avant toute source de nouvelles infections (notamment la tétée des agneaux). Vingt-six pour cent des brebis n'ont pu être prélevées le jour même, mais l'étalement des prélèvements est restreint et n'excède pas 4 jours.
- J_4 : un deuxième prélèvement a été réalisé en début de campagne N+1. Il permet de mettre en évidence une infection survenant juste après la mise bas, avant une contamination possible lors de la « repasse » (passage en salle de traite). Trente pour cent des brebis ont cependant été prélevées après la « repasse » et peuvent présenter des germes transmis par les manchons trayeurs.

Il aurait été intéressant de réaliser des prélèvements supplémentaires, au cours de la campagne N, avant J_{FL} . Cela aurait permis d'identifier les germes présents chez les brebis ayant présenté une mammité subclinique en cours de campagne, mais s'étant débarrassées de l'infection. De même, des prélèvements supplémentaires auraient pu être réalisés au cours de la campagne N+1. De plus, augmenter le nombre de prélèvements permet de limiter les faux-négatifs dus à l'excrétion sinusoidale des bactéries en cas de mammites subcliniques (HARIHARAN, 2004 ; BERGONIER, 2006). Cependant, la sensibilité analytique élevée des PCR réalisées limite ces résultats faussement négatifs. Le coût des PCR est aussi un facteur limitant au nombre d'analyses réalisables. Quatre prélèvements ont finalement été effectués, et les dates ont été choisies afin d'encadrer sur la période sèche.

Dans la littérature, le nombre de prélèvements bactériologiques est en moyenne de 3 pour les travaux portant sur le traitement au tarissement. Le nombre de prélèvements est souvent moins élevé que dans notre étude pour la campagne N (un seul prélèvement réalisé le jour du tarissement), tandis que les prélèvements sont parfois plus fréquents au cours de la

nouvelle lactation. Le Tableau 26 présente les dates des prélèvements bactériologiques dans l'ensemble des articles à notre disposition portant sur le traitement au tarissement chez les ovins.

Tableau 26: Dates des prélèvements bactériologiques pour différentes études portant sur le traitement au tarissement.

		Dates des prélèvements	
		Campagne N	Campagne N+1
Ovins	CHAFFER, 2003	Au tarissement	J15 à J20 J35 à J50
	GONZALO, 2004	7 jours avant le tarissement	$\leq 72h$ <i>post partum</i> J60 J120 J155
	BAREILLE, 2005b	Au tarissement	J1 à J14
	CONTE, 2007	Fin de lactation Au tarissement	$\leq 48h$ <i>post partum</i> J8
	SHWIMMER., 2008	Au tarissement	J0 A la fin de la période colostrale
	GONZALO, 2008	2 échantillons ≤ 5 jours avant le tarissement	2 échantillons $\leq J5$
	BOGOLIN, 2008	J8 à J20 puis tous les 30 jours	J8 à J20 puis tous les 30 jours
	SPANU, 2011	/	Avant la première traite J14 à J21
	PETRIDIS, 2012	Au tarissement	J0 (50% des animaux) ou J1 J4 ou J5

○ *Modalités de prise d'échantillons*

Les prélèvements bactériologiques ont été réalisés en prenant toutes les précautions nécessaires d'asepsie. Une contamination est cependant toujours possible, avec une probabilité plus élevée pour les prélèvements à J₀ et J₄. En effet, ces derniers ont été effectués en bergerie et non en salle de traite, avec des sources de contamination plus nombreuses : paille, placenta des mères ayant mis bas, agneaux cherchant à téter...

○ *Techniques analytiques*

Cette partie de la discussion porte sur la technique de détection des germes pathogènes du lait (et non sur les techniques de comparaison de positivité successives par séquençage à haut débit dont les résultats ne sont pas disponibles à l'heure où nous imprimons).

Caractéristiques de la PCR utilisée

La spécificité de l'amplification (chimie Taqman) a été apportée par la combinaison entre :

- les amorces ciblant une région conservée de l'ARNr 16S
- et par la sonde StaphProbe qui cible un site interne aux précédents et spécifique au genre *Staphylococcus*. Cette sonde était couplée à un fluorophore FAM (YANG, 2002).

La sensibilité analytique de cette PCR repose sur les points suivants :

- la présence de multiple copies du gène codant pour l'ARNr 16S
- la centrifugation initiale
- le processus d'extraction par séparation magnétique ; après liaison à l'ADN, les billes sont concentrées et le rendement de l'amplification à suivre est amélioré.

La répétabilité a été caractérisée au travers de la comparaison des résultats d'amplification :

- du contrôle interne
- des gammes de dilution du témoin positif
- et des échantillons testés à deux reprises.

La détermination des seuils de « positivité » bactérienne a été réalisée en plusieurs étapes :

- un nombre maximal de cycles pouvant correspondre à une détection paucibactérienne, un seuil provisoire a été pré-déterminé graphiquement (Figure 95) : les CT correspondant à un nombre de 1 bactérie par unité réactionnelle étaient compris entre 38,6 et 40,6
- d'autre part, la répétabilité de l'amplification a dépendu des titres détectés : en passant de 10 à 5 équivalents *Staphylococcus spp.* le coefficient de détermination chute de 0,99 à 0,94 ; en passant de 5 à 1, il chute à 0,78. Nous avons donc retenu le seuil de 5 équivalents de *Staphylococcus spp.* par volume réactionnel (correspondant à des CT de 38,1 à 36,2) car pour des titres inférieurs, il n'était pas possible de différencier correctement des résultats faiblement ou faussement positifs. Ce seuil représente pour nous la limite « instrumentale » au-delà de laquelle il n'a pas été possible de valider un résultat ; il correspond aussi à notre seuil « inférieur » sur le plan de la signification du résultat
- le seuil « supérieur » pour la signification du résultat est celui que nous devons définir pour tenter de différencier une contamination lors du prélèvement d'une excrétion galactophore vraie. Les titres moyens correspondant à ces deux cas n'étant pas bien connus (la bibliographie proposant surtout des techniques bactériologiques culturales), nous avons considéré le groupe des héli-mamelles cellulaires négatives (critère 4 regroupant J_{FL} et J_T) ; ces glandes mammaires, prises ici comme témoins négatifs (absence d'infection mammaire très probable), ont présenté des CT ≥ 33 (équivalents à > 100 « équivalents gènes »). Cette valeur a représenté notre seuil « supérieur » au-dessus duquel une détection de staphylocoques a été considérée comme infectieuse (infection intra-mammaire).

Comparaison entre PCR et bactériologie culturale

La méthode « de référence » pour mettre en évidence la présence de germes de mammites est habituellement la culture à partir du lait. La méthode choisie dans notre essai est la PCR en temps réel. Deux publications seulement concernent les ovins et comparent la culture à l'utilisation de la PCR ; elles sont relatives à une PCR multiple (« multiplex ») : la trousse Pathoproof[®], commercialisée pour les bovins (ROVAI, 2014; ZADOKS, 2014). Cette trousse permet l'identification des espèces suivantes : *Staphylococcus spp.* (dont *S. aureus*), *Streptococcus spp.* (*S. dysgalactiae*, *S. agalactiae*, et *S. uberis*), *E. coli*, *Enterococcus spp.* (dont *E. faecalis* et *E. faecium*), *Klebsiella spp.* (dont *K. oxytoca* et *K. pneumoniae*), *Serratia marcescens*, *Corynebacterium bovis*, *Trueperella pyogenes*, and *Peptoniphilus (Peptostreptococcus) indolicus*.

Les deux études ont obtenu une corrélation entre les deux méthodes estimée de 72 à 92%. Cette discordance partielle est retrouvée dans les deux sens : résultat positif en PCR et négatif en culture ou résultat négatif en PCR et positif en culture (plus rare). Selon ZADOKS *et al.* (2014), la corrélation était meilleure pour *Staphylococcus spp.* lorsque les résultats de PCR étaient divisés en deux classes : positivités « fortes » (CT<31) et « faibles » (CT allant de 31,3 à 37). Les premières correspondaient à des cultures positives, alors que les secondes correspondaient à une absence de culture.

De manière générale, les auteurs soulignent la fréquente majoration du nombre d'échantillons positifs avec la PCR par rapport à la culture. Cette majoration peut avoir plusieurs causes :

- la PCR permet de détecter des organismes non viables (TAPONEN, 2009), contrairement à la culture,
- la sensibilité diagnostique de la PCR est plus élevée. En effet, les publications comparant, sur les mêmes échantillons de lait, la culture et la PCR montrent généralement un gain de sensibilité analytique avec cette dernière (CEDERLOF, 2012; KEANE, 2013)
- la PCR ne permet pas forcément de distinguer les contaminations (faux positifs) ; cela dépend en particulier des amorces utilisées.

D'autre part, des faux négatifs sont possibles avec la méthode PCR pour les raisons suivantes :

- présence d'inhibiteurs de l'amplification,
- limite du nombre de micro-organismes recherchés par PCR.

Dans le type d'essai qui est le nôtre, où une sensibilité analytique élevée et une possibilité de comparer plusieurs positivités successives sont nécessaires pour un nombre important d'échantillons (n=2145), les avantages et limites de la PCR en temps réel sur la culture conventionnelles doivent être analysés.

Les avantages comprennent les points suivants :

- spécificité moléculaire forte liée à l'association entre amorces et sondes en chimie Taqman
- sensibilité analytique plus élevée qu'en bactériologie culturale (et sans risque de faux-positifs liés à l'enrichissement préalable à la culture)
- sensibilité diagnostique forte compte tenu des limites de la culture : celle-ci peut être retardée ou entravée par les conditions d'acheminement au laboratoire ou de conservation (froid positif ou négatif), l'utilisation de bronopol, la localisation intracellulaire des bactéries, le traitement des animaux,...
- rapidité
- possibilité de quantifier l'ensemble des bactéries recherché, qu'elles soient revivifiables ou pas
- possibilité par séquençage d'identifier ou de comparer des espèces ou souches, ou encore d'amplifier certains gènes de virulence ou d'antibiorésistance.

Les limites de la PCR en temps réel par rapport à la bactériologie conventionnelle comprennent aujourd'hui les points suivants :

- difficulté pour détecter et différencier les contaminants, de nature potentiellement assez large, des cibles à l'origine d'infections, lors d'application de PCR spécifiques (PCR « fermées »)
- limites des PCR spécifiques pour la mise en évidence d'un profil global d'antibiorésistance (indépendamment de notre étude).

4. Construction de critères de caractérisation des statuts infectieux

a. Critère clinique (critère 1)

Pour élaborer ce critère, l'ensemble des trois dates a été retenue (J_{FL} , J_T et J_0). Pour chaque signe d'inflammation (« déséquilibre », induration, nœuds lymphatiques, présence d'abcès, aspect du lait), un seuil inférieur et un seuil supérieur ont été défini. Une hémimamelle a été considérée comme « positive » en cas de présence de deux valeurs intermédiaires (deux symptômes concomitants ou successifs), ou lorsqu'une seule valeur dépassait le seuil supérieur. Ainsi, nous avons renforcé l'exactitude de cette caractérisation.

Les seuils fixés s'inspirent des études de PETRIDIS *et al.* (2012) mais surtout d'expérience sur le terrain. Nous avons également ajusté ces seuils en confrontant les résultats de nos examens cliniques avec nos résultats cellulaires.

L'incertitude majeure qui a pu fausser ce critère réside dans les erreurs d'interprétation des palpations mammaires (modifications cliniques physiologiques, distinction entre les degrés d'anomalies).

b. Critères cellulaires

Pour les différents critères cellulaires (critères 2, 3, 4 et 5), nous avons fixé un seuil inférieur et un seuil supérieur en prenant en considération deux facteurs de variations importants des comptages cellulaires :

- l'augmentation physiologique avec le stade de lactation (BERGONIER, 1996),
- l'augmentation avec le rang de lactation (RUPP, 2003).

Nos seuils inférieurs sont ainsi variables en fonction du rang et du stade de lactation. Le seuil supérieur, entre 800 000 et 1 000 000 de cellules par millilitre, est supérieur à la plupart des seuils proposés dans la littérature (300 000 cell/ml (GONZALO, 2004), 300 000 cell/ml (BERGONIER, 1994; De La CRUZ, 1994; PENGGOY, 2001). De rares auteurs en revanche majorent encore ce seuil jusqu'à 1 600 000 cell/ml (FTHENAKIS, 1991; JONES, 1991). Notre objectif, en fixant ces deux seuils, était d'identifier avec le plus de certitude possible des mamelles ou hémi-mamelles « positives » des « négatives », quitte à constituer une catégorie intermédiaire de « douteuses ». Ainsi, l'évaluation de l'efficacité du traitement repose sur des statuts robustes. La catégorie des « douteuses » a ensuite été utilisées en regroupement tantôt avec les « positives », tantôt avec les « négatives », en fonction de l'objectif statistique ou opérationnel poursuivi.

○ *Caractérisation du critère 2*

Ce critère se fonde exclusivement sur les comptages cellulaires par brebis. Afin d'évaluer l'évolution des statuts cellulaires au cours de la période sèche, nous avons utilisé les dates les plus proches de celle-ci, à savoir les trois derniers contrôles laitiers (campagne laitière N), et les trois premiers (campagne N+1).

Nous avons choisi de qualifier une mamelle de « négative » lorsque les trois valeurs étaient en-dessous du seuil inférieur. Lorsque deux valeurs dépassaient le seuil supérieur fixé, nous avons estimé que la deuxième information venait confirmer la première et nous avons qualifié la mamelle de « positive ». Lorsque qu'une seule valeur dépassait le seuil supérieur et que les deux autres valeurs étaient comprises entre le seuil inférieur et le seuil supérieur, nous avons considéré que les différences pouvaient être dues aux variations sinusoïdales des comptages cellulaires dans le temps (tout en restant au-dessus du seuil inférieur).

Ce critère est le seul critère qui peut être utilisé par les éleveurs en pratique, pour déterminer quelles brebis traiter (ou réformer). Cependant, nous avons eu à notre disposition plus de comptages cellulaires que réalisés en routine, le dernier donnant accès à des informations plus proches du tarissement. Dans la pratique, le dernier contrôle laitier est le sixième, soit sept mois au maximum après le pic d'agnelages, pour des lactations d'au moins huit mois.

○ *Caractérisation du critère 3*

Pour ce critère nous avons utilisé les mêmes dates de contrôles laitiers précédemment auxquelles nous avons ajouté les valeurs des comptages cellulaires effectués par hémimamelles. En campagne N, nous avons utilisé les comptages cellulaires à J_{FL} et en campagne N+1 le lait prélevé à J_4 , J_{10} et J_{40} . Nous avons volontairement exclu de ce critère les résultats de J_T en raison de l'augmentation physiologique très importante des comptages cellulaires au tarissement qui faussait la caractérisation de ce statut.

Afin de convertir nos résultats par hémimamelle en résultats par mamelle, nous avons calculé une moyenne entre les comptages cellulaires des deux hémimamelles en prenant en considération les « déséquilibres » mammaires. En effet, pour une mamelle asymétrique, il y a moins de lait du « petit » côté, les cellules sont alors plus concentrées et on obtient des valeurs de comptage cellulaire plus élevées. Nous avons donc appliqué un facteur de pondération prenant en compte cette particularité afin d'être le plus exact possible.

Nous avons appliqué pour ce critère les mêmes conditions que pour le critère 2 avec plus de données à notre disposition.

L'inclusion des résultats par hémimamelle a pu biaiser la caractérisation des statuts car nos prélèvements cellulaires ont été recueillis en début de traite, juste après les premiers jets, ce qui correspond à une fraction plus chargée en cellules que le lait de traite (mais moins chargée que les derniers jets). Bien que les seuils aient été majorés pour ces dates, beaucoup plus de mamelles que précédemment ont été classées « positives » ou « douteuses ».

○ *Caractérisation du critère 4*

Pour ce critère nous avons utilisé nos valeurs de comptages par hémimamelle uniquement ; les valeurs à J_{FL} et J_T pour la fin de la campagne N et à J_4 et J_{10} pour le début de la campagne N+1. Or, les valeurs de comptages cellulaires au tarissement (J_T) et juste après l'agnelage sont normalement très augmentés (inversement proportionnelles à la quantité de lait produite). Certaines valeurs à J_{FL} et/ou J_T , respectivement à J_4 et J_{10} , ont donc été invalidées car physiologiquement augmentées.

Nous avons validé ou invalidé une valeur en regardant l'hémi-mamelle controlatérale : si les comptages cellulaires des deux hémi-mamelles étaient très différents (différence supérieure à un delta fixé) nous avons validé les résultats ; en revanche deux valeurs élevées et semblables ont été considérées comme « douteuses » car possiblement dues à une augmentation physiologique.

Ces conditions de validation nous ont permis d'augmenter la spécificité de notre critère mais pas forcément la sensibilité (exclusion possible d'hémi-mamelles « positives » qui présentaient une mammite subclinique bilatérale).

Au tarissement, lorsqu'une valeur était invalidée, nous avons utilisé les résultats du dernier contrôle laitier afin d'augmenter l'exactitude de notre caractérisation.

- *Caractérisation du critère 5*

Ce critère est le seul à combiner plusieurs résultats, à savoir nos palpations mammaires et nos comptages cellulaires.

Pour caractériser les hémi-mamelles, nous sommes partis des statuts définis avec le critère 4, en conservant la positivité des hémi-mamelles selon ce critère. Nous avons ensuite utilisé les résultats des examens cliniques mammaires dans le but de réduire la classe des « douteuses » avec le critère 4. L'application pratique des conditions de caractérisation a effectivement permis de confirmer certaines inflammations subcliniques sur des hémi-mamelles « douteuses » cellulièrement, mais a aussi levé un doute sur certaines hémi-mamelles classées « négatives » cellulièrement avec une clinique « douteuse » ou « positive ». Ce critère n'a finalement pas répondu entièrement à nos attentes, mais nous a permis de combiner plusieurs résultats, ce qui est fait dans la pratique en élevage.

c. Critère bactériologique (critère 6)

Pour définir le statut d'une hémi-mamelle, nous avons considéré les seuils, discutés ci-dessus, de 5 et 100 « équivalents gènes ». En effet, deux seuils ont été nécessaires, pour majorer ici aussi l'exactitude des statuts bactériologiques, car deux types d'incertitude étaient à contrôler : une incertitude « instrumentale » (seuils de positivité en PCR), et une incertitude

biologique (ou propédeutique) entre une excrétion vraie (infection mammaire) et une contamination (cutanée en général). Cette différenciation a été rendue nécessaire en particulier par le pourcentage important de résultats positifs aux deux dates *post partum*, et surtout de résultats faiblement positifs. A chaque fois, nous nous sommes fondés sur l'association des résultats à J_{FL} et J_T (respectivement J_0 et J_4).

- lorsqu'un des deux résultats dépassait 100 « équivalents gènes » (correspondant à un CT d'à peu près 33), l'hémi-mamelle était considérée « positive » car rares sont les contaminations aussi importantes quantitativement, compte tenu des précautions que nous avons prises. Dans la littérature, les résultats avec des CT inférieurs à 37 sont généralement considérés comme positives, mais en général les auteurs ne cherchent pas à différencier infection et contamination. Le risque de faux-positif est faible en utilisant ce moyen de classement.
- lorsqu'il n'y avait pas d'amplification, ou une amplification inférieure à 5 « équivalents gènes » (bruit de fond), l'hémi-mamelle était considérée « négative ». Le risque de faux-négatif est faible, du fait de la sensibilité élevée de cette méthode.
- nous avons également utilisé deux autres classes pour ce critère : « présumée positive » et « douteuse », pour les valeurs se situant entre les deux seuils. En effet, une contamination extérieure lors du prélèvement peut donner un résultat PCR faiblement positif. Nous avons ainsi distingué les « douteuses » pour lesquelles un seul prélèvement se situait entre les deux seuils, l'autre étant négatif (contamination ponctuelle probable), et les « présumées positives » pour lesquelles les deux valeurs se situaient entre les deux seuils (la probabilité d'avoir une contamination extérieure aux deux dates est moins élevée).

5. Antibiothérapie intra-mammaire au tarissement

a. Choix des brebis à traiter

Ne souhaitant pas utiliser de techniques de bactériologie rapide mal ou non validées (Petrifilms[®], CAMERON, 2014), et préférant au contraire traiter l'ensemble des échantillons de laits en une fois dans le cadre de cet essai « de référence » (diminution de la variabilité

inter-essais en PCR quantitative), nous avons sélectionné les cibles du traitement sur des critères non bactériologiques. Le premier d'entre eux a été les comptages cellulaires, analysés sur l'ensemble de la campagne : le traitement a ciblé les cas d'infection mammaire présumée ayant duré jusqu'en seconde moitié de campagne (jusqu'en mars au moins). En second lieu, les signes cliniques de mammites chroniques, évaluées à deux reprises, ont donné lieu à un traitement.

Il n'en va pas toujours de même dans la bibliographie. Chez la vache laitière, SCHERPENZEEL *et al.* (2014) n'ont considéré que les comptages cellulaires du dernier mois avant tarissement pour une étude importante sur 1 657 vaches. Avec cette clef de sélection, les comptages cellulaires et le taux de mammites cliniques en début de lactation se sont révélés plus élevés pour les quartiers n'ayant pas reçu de traitement au tarissement. Le risque de tri de vaches faussement saines peut être souligné ici.

b. Choix des molécules antibiotiques et de la spécialité

Trois critères de choix ont été utilisés :

- une durée d'action longue, compte tenu de la durée de la période sèche chez les ovins laitiers (≥ 3 mois) ; dans le cas contraire, nous ne pouvions répondre à la question de la prévention en dehors des 30 à 50 premiers jours de période sèche,
- un spectre d'action large, mais surtout une activité validée vis-à-vis des germes à Gram positif, largement majoritaires chez les ovins (CONTRERAS, 2007),
- une autorisation de mise sur le marché (en France au moins).

Le Nafpenzal[®] seul remplissait ces trois critères de sélection. L'extension d'AMM aux ovins a été obtenue en novembre 2004 ; elle est relative au « traitement des mammites subcliniques dues à des Staphylocoques à coagulase négative » (RCP). L'association benzylpénicilline procaine (170mg), nafcilline sodique (100 mg) et dihydrostreptomycine (sous forme sulfate) (100 mg) a donc été retenue. La posologie a été d'une seringue par hémimamelle. Dans ces conditions d'administration, les caractéristiques et activité de cette spécialité sont résumées ci-après à partir des données du « Dossier technique Nafpenzal[®]T

chez la brebis laitière » (BAREILLE, 2005a et 2005b), correspondant aux conditions françaises. D'autres publications sont également disponibles sur cette spécialité chez les ovins ou les caprins (LOHUIS J, 1995 ; CHAFFER, 2003 ; MUNOZ BIELSA, 2005).

- pharmacocinétique : des concentrations supérieures aux CMI en pénicilline, nafcilline et dihydrostreptomycine dans les sécrétions mammaires de brebis durant la période sèche sont présentes respectivement 56, 42 et 98 jours après le traitement. L'action additive et synergique permise par l'association entre la dihydrostreptomycine et les bêtalactamines permet en outre d'obtenir une efficacité pendant une période plus longue que celle déterminée pour chaque antibiotique pris individuellement. L'AMM garantit une durée d'action d'approximativement 5 mois. De plus, deux études rapportent la détection des résidus jusqu'à 3 et 5 jours après la mise bas (LOHUIS, 1995; CHAFFER, 2003).
- pharmacodynamie : la benzylpénicilline et la nafcilline sont deux bêtalactamines actives sur les bactéries à Gram positif, notamment les streptocoques et les staphylocoques. Les souches bactériennes productrices de pénicillinases doivent être considérées comme résistantes à la benzylpénicilline. La nafcilline est active contre les staphylocoques producteurs de pénicillinases, en particulier *Staphylococcus aureus* et contre les microcoques. La dihydrostreptomycine est un aminoside actif surtout sur les bactéries à Gram négatif. De plus, elle agit en synergie avec la benzylpénicilline sur les bactéries pénicillinases positives, en particulier *Staphylococcus aureus*. En raison de la synergie entre les trois antibiotiques, la spécialité est active à moindres concentrations sur les bactéries précitées, y compris les staphylocoques pénicillino-résistants (BAREILLE et COX, 2005b).
- efficacité : l'étude réalisée par BAREILLE et COX (2005) chez les ovins laitiers a montré un pourcentage de guérison bactériologique de 100% pour *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* et *E. coli*, de 94% pour *Staphylococcus epidermis* et de 64% pour l'ensemble des staphylocoques à coagulase négative. En ce qui concerne la prévention des nouvelles infections, il n'y a que pour *S. epidermis* qu'une différence significative est notée entre le lot traité et le lot témoin (ces différents résultats sont en partie liés aux effectifs recrutés et aux prévalences habituelles chez les ovins laitiers). Concernant les comptages cellulaires et la production laitière, il a

été montré des différences significatives entre le lot témoin et le lot traité : moyennes de comptages cellulaires moindres (moins 250 000 cellules/ml) et meilleure production laitière pour le lot traité (BAREILLE, 2005b).

6. Antiseptie des trayons

a. Stratégie

Nous avons voulu tester une mesure complémentaire à l'antibiothérapie intramammaire, pouvant avoir un intérêt à l'issue de la période sèche (et après) pour la prévention des infections mammaires (et cutanées).

Conscients de la difficulté de mise en œuvre de l'antiseptie des trayons chez une espèce allaitant pendant approximativement un mois, tout en étant traite à partir de quatre jours, nous avons souhaité évaluer directement un protocole relativement lourd. Celui-ci comprenait en effet deux produits, deux types d'application et une durée allant de 40 à 60 jours, de telle sorte qu'il était présumé efficace sur le plan de l'antiseptie cutanée. Ainsi, nous souhaitions déterminer si un effet existait dans le cadre de la stratégie globale de notre étude, c'est-à-dire en association avec une antibiothérapie.

Enfin, nous avons choisi de n'appliquer les antiseptiques que sur un trayon (tiré au sort) par brebis, et non sur une brebis sur deux. L'objectif était ainsi de ne pas additionner d'éventuels effets liés aux animaux (immunité générale, rang de lactation, conformation mammaire, comportement,...) et liés à l'antiseptie des trayons (l'animal est ici son propre témoin). Les effectifs sont de plus multipliés par deux dans notre cas. Enfin, nous gardions ainsi la compatibilité avec le lot 3, traité par hémi-mamelle, et nous évitons les difficultés de stratification des deux lots.

b. Composition

Deux produits complémentaires, tant sur le plan des principes actifs, que de la galénique ou des modalités d'application, ont été utilisés :

- le Io-shield[®] : l'action antiseptique est assurée par l'iode, associée à l'acide dodécylbenzène sulfonique, qui a un spectre large. Grâce à la glycérine, le produit a de plus un effet mécanique, pour la protection du trayon et du sphincter, qualifié commercialement d'effet « barrière ». La rémanence du produit est en effet forte pour un produit d'hygiène du trayon (12 à 24 heures selon le fabricant).
- la Festadine[®] : l'association de la chlorhexidine et des ammoniums quaternaires élargit le spectre de la chlorhexidine en renforçant l'action contre les Gram négatifs.

c. Modalités d'application

L'application du Io-shield[®], nécessairement en trempage, nécessite l'utilisation de gobelets ; nous n'avons pu identifier dans le commerce des gobelets adaptés aux trayons des brebis Lacaune, et non des bovins. Pour une bonne efficacité du produit, il était important de veiller à tremper l'intégralité du trayon dans le produit, ce qui s'est révélé délicat à réaliser. L'utilisation correcte de ce produit a été possible au cours de notre étude, mais paraît difficilement transposable en élevages.

La Festadine[®], plus facile d'utilisation (pulvérisations du trayon en salle de traite), a été en partie appliquée au cours de notre étude par le personnel de la Cazotte. Ce produit et cette modalité d'application sont fréquents dans la zone de Roquefort.

d. Calendrier

Notre protocole prévoyait une application du Io-shield[®] trois fois avant mise bas, la dernière application datant de moins de 24h avant le part. Néanmoins, l'impossibilité de prédire la date des mises bas, ainsi que les quelques mises bas précoces, ont rendu difficile l'application stricte de ce protocole. Nous n'avons donc pas pu uniformiser totalement l'application de ce produit.

Nous avons initialement prévu de mettre en place une période de trente jours de pulvérisations de Festadine[®] *post partum*. La durée de notre présence dans l'élevage n'a pas permis de continuer nous mêmes, mais 99% des animaux ont reçu plus de 10 jours de pulvérisations.

Ces différents points ont été pris en compte dans l'analyse des données en distinguant les groupes d'animaux ayant reçu correctement les deux produits, et ceux pour lesquels l'écart au protocole prévu était plus important.

Enfin, il faut noter qu'aucune brebis n'a reçu d'antisepsie entre J₀ et J₄. Cela s'explique par l'absence de traite et la présence des agneaux qui tètent durant cette période, rendant illusoire l'utilisation d'un antiseptique.

Peu d'articles dans la littérature s'intéressent à l'impact de l'antisepsie sur la prévention des mammites, et aucun en petits ruminants. Chez les bovins, Whist et al, 2006, ont comparé la prévalence de *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus dysgalactiae* chez trois groupes d'animaux : avec une antibiothérapie sélective au tarissement, avec un trempage d'une solution iodée (Proactive Plus[®]) ou avec un obturateur externe (DryFlex[®]). Le protocole mis en place dans cette étude pour la solution iodée a été le suivant : tous les animaux en lactation recevaient un trempage de la solution iodée après chaque traite. Dans les élevages où les vaches étaient en semi-liberté, les trempages s'arrêtaient le jour du tarissement. Pour les élevages où les vaches étaient en stabulation, les trempages étaient poursuivis deux à trois jours après le tarissement. Ce protocole a été maintenu pendant deux années consécutives. Le protocole utilisé ici est donc sensiblement différent de celui choisi pour notre étude, avec une antisepsie réalisée quotidiennement en cours de lactation.

En bilan, sur les molécules et les spécialités utilisées dans cet essai, tant pour l'antibiothérapie que l'antisepsie, nous avons utilisé :

- des associations de principes actifs pouvant être considérés comme larges (trois molécules principales dans les deux cas) et, d'autre part, additives ou synergiques. Respectant les réglementations relatives pour l'une aux AMM et pour les autres aux biocides, elles sont d'efficacité validée sur des spectres larges,
- une galénique et des excipients adaptés aux spécificités des ovins laitiers : de longues périodes de tarissement (ici trois à quatre mois) et d'allaitement-traite (un mois), auxquelles nous avons répondu par des spécialités fortement rémanentes par rapport à leurs homologues (Nafpenzal[®]T et Io-shield[®]), ou au contraire à effet rapide (Festadine[®]) en période d'allaitement,

- des modalités d'administration ou d'application optimisées, respectivement en termes de posologie (une seringue par héli-mamelle) et de nombres d'applications (jusqu'à sept applications pour Io-shield[®] et jusqu'à 50 jours pour la Festadine[®]).

Au total, les efficacités potentielles peuvent donc être considérées comme élevées par rapport à d'autres spécialités commercialisées ; cet élément est à prendre en compte lors de l'interprétation des différences existant entre les animaux traités et non traités.

II. Discussion des résultats

1. Efficacité de l'antibiothérapie intra-mammaire au tarissement

Indépendamment de la stratégie de ciblage du traitement, nos résultats permettent de comparer les taux d'élimination et de prévention des infections entre deux groupes : les (héli)-mamelles traitées et non traitées.

a. Efficacité curative

○ Résultats bibliographiques

Les taux de guérison bactériologique rapportés dans la littérature, après traitement intra-mammaire au tarissement d'ovins laitiers, vont de 64% à 95%. La gamme de valeurs obtenues s'abaisse à 50% si l'on intègre les ovins allaitants (HENDY, 1981 ; HUESTON, 1989 ; AHMAD, 1992 ; MARCO, 1994 ; KIRK, 1996 ; LONGO, 1996 ; LONGO, 2001 ; CHAFFER, 2003 ; GONZALO, 2004 ; BAREILLE, 2005b ; MUNOZ BIELSA, 2005). Les pourcentages obtenus chez les ovins laitiers sont indiqués au Tableau 27.

Dans notre pays (ovins laitiers), les résultats suivants ont été publiés en matière de taux de guérison bactériologique :

- 94,7% (contre 23,8% pour le lot témoin non traité) pour l'association spiramycine – néomycine (LONGO, 1996), valeur la plus élevée dans la bibliographie,

- 86 et 89% pour un essai comparant respectivement la même association que ci-dessus et la céfazoline (LONGO, 2001),
- 64% (contre 49% pour le lot témoin non traité) vis-à-vis des staphylocoques à coagulase négative avec l'association nafcilline, benzylpénicilline et dihydrostreptomycine (Nafpenzal[®]T) (BAREILLE, 2005b),
- 75 à 89% pour le Nafpenzal[®]T, en fonction de l'inclusion ou pas des substitutions d'infections entre le tarissement et la mise bas (CONTE, 2007).

Le Nafpenzal[®]T a aussi fait l'objet de deux publications israéliennes ayant obtenu des taux de guérison de 65% et 71%, avec des dosages légèrement différents (CHAFFER, 2003 ; (SHWIMMER, 2008).

Même si les méthodes utilisées dans ces divers essais, ainsi que la situation des élevages (prévalence, étiologie,...), diffèrent significativement, les valeurs de guérison bactériologique associées à l'utilisation de la spécialité retenue pour notre étude varient ainsi de 64 à 95% (ovins laitiers).

- *Résultats expérimentaux*

Nos résultats de guérison bactériologique ne sont pas définitifs puisqu'une partie des données n'est pas encore disponible : les résultats de PCR pour les genres autres que *Staphylococcus spp.* et, d'autre part, les comparaisons d'espèces bactériennes. A ce stade, nos résultats ne sont donc pas comparables à ceux des publications rappelées ci-dessus. De plus, l'ensemble de ces travaux a été réalisé à l'aide de techniques bactériologiques conventionnelles (culture), et en général sans utilisation de critères combinant plusieurs dates et parfois plusieurs conséquences de l'infection (comptages cellulaires et symptômes cliniques pour notre travail). Enfin, notre essai, n'ayant pas été construit pour cet objectif, ne dispose pas de lot témoin non traité. Nos résultats seront donc discutés uniquement en comparaison des lots.

De plus, nous avons délibérément choisi de privilégier l'étude de l'efficacité préventive du traitement, avec des conséquences quantitatives nettes sur les effectifs : le nombre d'hémi-mamelles infectées en fin de lactation N était pour nous réduit, au profit de celui des hémi-

mamelles saines. Nous manquons donc de puissance statistique pour la détermination des taux d'élimination d'infection.

b. Efficacité préventive

o Résultats bibliographiques

Les taux de nouvelles infections (sur la foi d'analyses bactériologiques) rapportés dans la littérature, après traitement intra-mammaire au tarissement d'ovins laitiers, vont de 3 à 25% (HENDY, 1981 ; HUESTON, 1989 ; AHMAD, 1992 ; MARCO, 1994 ; KIRK, 1996 ; LONGO, 1996 ; LONGO, 2001 ; CHAFFER, 2003 ; GONZALO, 2004 ; BAREILLE, 2005b ; MUNOZ BIELSA, 2005). L'ensemble des pourcentages obtenus est repris au Tableau 27.

Dans notre pays (ovins laitiers), les résultats suivants ont été publiés en matière de taux de nouvelles infections :

- o 3,1% (contre 14,5% pour le lot témoin non traité) pour l'association spiramycine – néomycine (LONGO, 1996),
- o 5 et 6,5% pour un essai comparant respectivement la même association que ci-dessus et la céfazoline (LONGO, 2001),
- o 24% (contre 26,2% pour le lot témoin non traité) avec l'association nafcilline, benzylpénicilline et dihydrostreptomycine (Nafpenzal[®]T) (BAREILLE, 2005b),
- o 23 à 37% pour le Nafpenzal[®]T, en fonction de l'inclusion ou pas des substitutions d'infections entre le tarissement et la mise bas (CONTE, 2007).

CHAFFER *et al.* (2003) avaient obtenu, avec la même association dosée différemment, un taux de nouvelles infections de l'ordre de 15% deux à trois semaines après mise bas, et 27% trente-cinq à cinquante jours après agnelage.

Les taux de nouvelles infections associées à l'utilisation de la spécialité retenue pour notre étude varient ainsi de 15 à 37% (ovins laitiers). Ce type de résultat est cependant lié aux

différentes caractéristiques des élevages dans lesquels les essais sont conduits ; les comparaisons ne devraient idéalement être conduites qu'à l'intérieur d'une même étude.

Dans ce cadre, il est à noter que les différences obtenues entre lots traités et lots témoins, dans la majorité des études ci-dessus, ne sont pas significatives. Il n'en allait pas de même pour les taux de guérison bactériologique. Nous pouvons sans doute voir là la principale raison à l'indication formelle restrictive retenue dans l'AMM ovine du Nafpenzal[®]T et du Cefovet[®]HL : « traitement des mammites subcliniques dues à des Staphylocoques à coagulase négative » pendant la période sèche (RCP) ; la prévention n'apparaît pas. Précisons cependant que certains de ces essais ont, au contraire du nôtre, privilégié l'évaluation de l'efficacité curative du traitement, et se sont donc heurtés à un manque de puissance statistique pour l'étude de l'efficacité préventive.

○ *Résultats expérimentaux*

Les résultats d'apparition de nouvelles infections sont, dans notre essai, interprétables car les effectifs sont corrects (536 hémi-mamelles) et la prévalence des infections mammaires dans l'élevage est faible. Les critères cellulaires se fondent sur un grand nombre de dates et sont donc plus précis que les autres critères, ils sont à privilégier ici.

Les taux de nouvelles infections sont plus faibles pour les critères cellulaires (de 2 à 8%) que pour les critères cliniques (13%) ou bactériologiques (16%), pour les hémi-mamelles traitées. La même tendance est retrouvée en l'absence de traitement. De plus, les pourcentages sont toujours plus faibles pour les hémi-mamelles traitées que non traitées, quelque soit le critère considéré. Nos résultats rejoignent sur ce dernier point ceux obtenus dans d'autres essais sur le traitement au tarissement chez les ovins (Tableau 27). Cependant, les différences de taux de nouvelles infections, avec et sans traitement, sont rarement significatives dans la littérature. Ici, avec une spécialité à forte persistance intra-mammaire comme le Nafpenzal[®]T, nous montrons, pour l'élevage suivi, que la différence entre glandes traitées et non traitées se situe entre les seuils de signification de 0,1 et de 0,05 pour quatre critères sur six, et atteint 0,050 pour le critère clinique. Ce dernier résultat est cependant effacé si l'on intègre les nouvelles mammites cliniques discrètes (et pas seulement les mammites marquées).

Cet effet du traitement sur les nouvelles infections peut s'expliquer en partie par la spécialité choisie. En effet, dans la plupart des publications, la spécialité utilisée a une action courte et ne peut donc avoir un effet préventif qu'en début de période sèche. Or, une autre période à risque d'apparition de mammites se situe autour de la mise bas. Nous avons vu que les études sur la pharmacocinétique du Nafpenzal[®]T (BAREILLE, 2005a) ont montré une rémanence des principes actifs jusqu'à 98 jours après le tarissement. Nous pouvons émettre l'hypothèse que, dans notre essai, le Nafpenzal[®]T a eu un effet préventif sur les infections en début de période sèche, mais a également couvert la période *peri partum*.

Pour résumer, les résultats que nous avons obtenus se situent dans une gamme inférieure à celle de la littérature (2 à 16% de nouvelles infections pour les glandes mammaires traitées), mais en revanche le point majeur est commun avec celle-ci : l'absence d'effet hautement significatif.

Tableau 27: Antibiotiques intra-mammaires utilisés et résultats obtenus lors des essais relatifs à la brebis laitière.

Références	Nombre d'animaux	Antibiotiques intra-mammaires utilisés au tarissement	Groupes	Taux d'élimination	Taux de nouvelles infections
LONGO, 1996		Spiramycine, néomycine (sulfate)	Avec traitement	94,7%	3,1%
			Sans traitement	23,8%	14,5%
LONGO et PRAVIEUX, 2001		Spiramycine, néomycine (sulfate)	Avec traitement	86%	5%
		Céfalozone	Avec traitement	89%	6,5%
CHAFFER, 2003	85	Benzylpenicilline procaïne, nafcilline (sodique), dihydrostreptomycine (sulfate)	Avec traitement	64,5%	15,6%
			Sans traitement	6,5%	28,6%
BAREILLE et COX 2005b	245	Benzylpénicilline procaïne, nafcilline (sodique), dihydrostreptomycine (sulfate)	Avec traitement	64% (SCN)	14,6% (SCN)
			Sans traitement	49% (SCN)	19,6% (SCN)
CONTE, 2007	124	Cloxacilline (benzathine) et néomycine (sulfate)	Avec traitement	87,7%	36%
		Benzylpénicilline procaïne, nafcilline (sodique), dihydrostreptomycine (sulfate)	Avec traitement	86,4%	14,7%
SCHWIM-MER, 2008		Benzylpénicilline procaïne, nafcilline (sodique), dihydrostreptomycine (sulfate)	Avec traitement	71%	/

BOGOLIN et VASIU, 2008	252	Cloxacilline (benzathine)	Avec traitement	79%	/
			Sans traitement	23%	/
LINAGE et GONZALO, 2009b	229	Penethamate hydriodide, penicilline benethamine, framycetine (sulfate)	Avec traitement	81,7%	7,9%
			Sans traitement	13,3%	22,8%
SPANU, 2011	245	Cephapirine (benzathine)	Avec traitement	/	/
			Sans traitement	/	/
PETRIDIS, 2012	31	Benzylpénicilline procaïne, neomycine (sulfate)	Tarissement progressif – HM traitée	50%	/
			Tarissement progressif – HM non traitée	0%	/
			Tarissement brutal - HM traitée	60%	/
			Tarissement brutal – HM non traitée	33%	/

SCN : Staphylocoques à coagulase négative

HM : Héli-mamelle

2. Comparaison du traitement exhaustif et sélectif

○ Résultats bibliographiques

Chez les ovins, un seul essai compare le traitement exhaustif et sélectif (GONZALO, 2004). Il a été réalisé sur un effectif de 286 brebis, réparties en trois groupes : 104 avec traitement exhaustif, 103 avec traitement sélectif, 79 sans traitement. Les groupes ont été comparés, non pas en fonction des taux de guérison ou de nouvelles infections comme dans notre étude, mais en termes de prévalence des mammites à la lactation N. Les résultats obtenus sont les suivants : 18,8% (traitement exhaustif), 15,6% (traitement sélectif) et 48,3% (témoin). Aucune différence significative n'est retrouvée entre les deux types de traitement, qui présentent tous les deux des prévalences significativement plus faibles que dans le lot témoin non traité. Dans cette même étude, il est mis en évidence que la production laitière individuelle est 6,9% plus élevée dans les lots traités que dans le lot témoin, mais là encore, aucune différence significative n'est retrouvée entre les deux types de traitement.

Chez les bovins laitiers, la littérature est plus abondante, et si nous arrêtons nos recherches aux articles postérieurs à 1999, nous trouvons une quatorzaine études sur le sujet (OSTERAS, 1999 ; BERRY, 2002 ; BERRY, 2003 ; SEEGERS, 2010 ; SEEGERS, 2006 ; WHIST, 2007 ; HUIJPS, 2007 ; ROBERT, 2008 ; HALASA, 2009 ; SEEGERS, 2010 ; RAJALA-SCHULTZ, 2011 ; SCHERPENZEEL, 2014 ; CAMERON, 2014).

Une partie des articles met en évidence une différence entre traitement sélectif et exhaustif, notamment au niveau du risque de nouvelles infections, plus élevé en cas de traitement sélectif (BERRY, 2002 ; BERRY, 2003). Une étude réalisée en 2006 présente une analyse intégrant les résultats publiés sur l'antibiothérapie au tarissement chez les bovins (ROBERT, 2006). Il en ressort que le risque de nouvelles infections est 1,71 fois plus élevé chez les vaches recevant un traitement sélectif que celles avec un traitement exhaustif.

Plus récemment, SCHERPENZEEL *et al.* (2014) a évalué l'impact du traitement sélectif fondé sur les comptages cellulaires. Pour chaque vache avec des comptages cellulaires bas avant le tarissement (<150 000 cell/ml pour les primipares et <250 000 cell/ml pour les multipares), deux quartiers du même côté étaient traités, alors que les deux autres restaient non traités. Le taux de mammites cliniques était plus élevé dans les quartiers non traités

(OR=1,7 [1,4-2,1]). De plus, les comptages cellulaires à la mise bas et à J₁₄ étaient significativement différents entre les deux groupes (772 000 et 46 000 cell/ml pour les quartiers non traités et 578 000 et 30 000 cell/ml pour les quartiers traités). L'utilisation d'antibiotique, limitée au tarissement, était augmentée à la mise bas pour traiter les mammites cliniques.

A l'inverse, d'autres articles récents concluent à la similarité des deux types de traitements, exhaustif et sélectif, en termes d'efficacité (CAMERON, 2014) (CAMERON, 2015); (RAJALA-SCHULTZ, 2011). Une grande attention est portée dans ses études au choix des animaux à traiter, qui ne se limite pas aux animaux avec des comptages cellulaires élevés. CAMERON *et al.* (2014) ont notamment essayé de déterminer l'utilité d'une culture réalisée sur place pour choisir les vaches à traiter parmi celles avec des comptages cellulaires bas (<200 000 cell/ml). Dans leur étude, le risque de nouvelles infections à la mise bas et le risque de mammite clinique sont similaires entre les deux groupes (groupe avec un traitement sélectif et groupe avec un traitement sélectif basé sur le résultat de la culture) (CAMERON, 2014). Ils ont également trouvé que la production laitière et les comptages cellulaires à la campagne N+1 ne présentaient pas de différence significative entre les deux groupes (CAMERON, 2015).

D'autres études associent les comptages cellulaires et les antécédents de mammites cliniques pour choisir les animaux à traiter. Par exemple, RAJALA-SCHULTZ *et al.* (2011) ont considéré des vaches avec des comptages cellulaires bas (<200 000 cell/ml au cours des trois derniers mois de lactation) et n'ayant pas d'antécédents de mammites cliniques sur les trois derniers mois de lactation. La production laitière à la campagne N+1 est identique entre les deux groupes (traitement ou absence de traitement). Une différence est par contre retrouvée au niveau des comptages cellulaires, qui sont significativement plus élevés dans le groupe non traité. Néanmoins, l'étude a été réalisée dans plusieurs élevages, et des différences très importantes ont été constatées entre troupeaux. Les auteurs concluent que le traitement sélectif est une option intéressante dans certains types d'élevage uniquement, dont les caractéristiques restent à déterminer.

La réussite du traitement sélectif semble également dépendre du choix de l'échelle appliquée (à l'échelle de la mamelle ou du quartier). Les résultats obtenus sont meilleurs

lorsque le traitement sélectif est réalisé à l'échelle de la mamelle (ROBERT, 2006 ; BERRY, 2003).

L'ensemble de la littérature sur ce sujet apporte donc des conclusions variables, et plusieurs paramètres semblent jouer un rôle dans cette variabilité : critères de sélection des animaux à traiter, type d'élevage et niveau sanitaire du troupeau, échelle du traitement (par quartier ou par mamelle...), etc... Le choix des animaux à traiter est notamment décisif, et ne devrait pas se limiter aux comptages cellulaires.

○ *Résultats expérimentaux*

Au niveau des taux de guérison, aucune différence significative n'est retrouvée entre les lots, et les résultats sont très proches quelque soit le critère.

Concernant les taux de nouvelles infections, une tendance générale est retrouvée en faveur du lot A (traitement exhaustif) qui possède les taux les plus bas pour l'ensemble des critères. Néanmoins, la différence n'est significative que pour le critère 1 et le critère 5 ($p=0,069$; $p=0,029$ et $p=0,041$), qui sont les deux critères basés sur la clinique. Cette différence est en partie effacée si nous intégrons les signes cliniques discrets. D'autre part, une différence significative ($p=0,034$) est retrouvée en faveur du lot A pour le critère 4 (cellulaire), en prenant en compte les signes cliniques discrets.

D'après ces résultats, le traitement exhaustif semble avoir un meilleur effet préventif que le traitement sélectif, à l'échelle de la mamelle ou de l'hémi-mamelle. Ces résultats se fondent sur des examens et des prélèvements réalisés en tout début de lactation N. Si nous regardons les résultats de l'ensemble de la campagne N+1, nous remarquons que les différences s'atténuent, voire disparaissent.

En effet, si nous comparons les aires sous la courbe des comptages cellulaires, nous remarquons qu'en se basant sur J_4 , J_{10} et J_{40} uniquement, les valeurs sont plus basses pour le lot A (différence non significative). Mais si nous nous plaçons à l'échelle de la mamelle et que nous intégrons l'ensemble des contrôles laitiers de la campagne N+1, nous remarquons que les différences s'estompent. Tout se passe comme si une différence faible existait sur les

premiers comptages cellulaires par hémi-mamelle mais disparaissait au cours de la lactation. Deux interprétations sont possibles :

- les comptages cellulaires par hémi-mamelle de début et fin de lactation sont difficiles à interpréter et moins fiables que les comptages cellulaires individuels en contrôle laitier officiel,
- il existe des infections mammaires brèves, non durables, détectées uniquement par les comptages cellulaires par hémi-mamelle, mais qui ne gênent pas la production après sevrage.

Un autre point important à considérer est la production laitière au cours de la campagne laitière N+1. Aucune différence significative n'est retrouvée entre les lots, et une meilleure production est même retrouvée pour le lot C (traitement sélectif à l'échelle de l'hémi-mamelle).

Un autre aspect abordé dans notre étude est le nombre de mammites cliniques en début de lactation N+1. Celui-ci est plus élevé dans le lot C (4 cas) que dans les lots A et B (respectivement 1 et 2 cas). Néanmoins, cette apparition de mammites cliniques ne paraît pas liée au traitement (3 hémi-mamelles sur 7 avaient reçues un traitement au tarissement).

3. Efficacité préventive de l'antisepsie des trayons

L'antisepsie a été réalisée sur une des deux hémi-mamelles pour chacune des brebis. Nous avons évalué l'efficacité préventive de l'antisepsie pour les quatre critères qui caractérisent nos hémi-mamelles (critères 1, 4, 5 et 6).

Nos résultats ne montrent pas de différence significative entre les hémi-mamelles qui ont reçu l'antisepsie et les autres (p allant de 0,14 à 0,98). Cependant, la même tendance se retrouve pour nos quatre critères : il a toujours un pourcentage plus important de nouvelles « positivités » pour le lot des hémi-mamelles qui n'ont pas reçu l'antisepsie (entre 0 et 5% de « positivités » en plus).

Nous avons ensuite essayé de gommer l'interaction entre l'antisepsie et l'antibiothérapie en distinguant les héli-mamelles traitées des non traitées pour chaque critère. Dans cinq cas sur huit, le même résultat est retrouvé : il y a plus de nouvelles « positivités » pour les héli-mamelles qui n'ont pas reçu l'antisepsie (différence allant de 2% à 8% de positivités en plus). Dans deux autres cas le pourcentage est le même avec ou sans antisepsie et dans le dernier cas, nous avons trouvé 1% de nouvelles « positivités » en plus pour les héli-mamelles sans antisepsie (critère 4). Pour le critère 5, ces résultats frôlent la significativité ($p=0,15$ en comparant l'effet de l'antisepsie sur des héli-mamelles non traitées).

Les résultats obtenus mériteraient d'être approfondis. En effet, les quelques différences significatives qui tendaient à montrer un effet préventif de l'antibiothérapie pourrait être compensées, en particulier pour des grands troupeaux, par l'utilisation de l'antisepsie, en vue de réduire le volume global d'antibiotiques utilisés. Les rares articles disponibles chez les ovins laitiers (BERGONIER, 2005, CONTRERAS, 2007) rapportent des efficacités préventives significatives pour ces pratiques d'antisepsie des trayons après la traite. Chez la vache laitière, de nombreux articles étudient l'efficacité de l'antisepsie et ont montré une réduction significative des nouvelles infections (OLIVER, 1990, OLIVER, 1999, BARKEMA, 1999).

Une investigation plus approfondie serait donc à envisager pour une autre étude, dans le but de réduire les écarts à notre protocole qui sont peut-être en partie à l'origine de l'absence de conclusion définitive. En effet, quelques limites ressortent dans notre étude :

- la précocité des mises bas : les premières mises bas ont commencé plus tôt que ne le prévoyait le calendrier des IA et les premières brebis n'ont pas reçu d'Io-Shield[®],
- les écarts au protocole et l'observance : l'étalement des mises bas ainsi que la présence des agneaux nous ont empêché de réaliser les mêmes applications pour toutes brebis,
- l'interaction avec l'antibiothérapie qui diminue notre puissance statistique et rajoute un biais à nos interprétations.

4. Facteurs associés à l'efficacité de l'antibiothérapie intra-mammaire

Dans la littérature, plusieurs articles mettent en évidence des facteurs de risque des mammites autour de la période sèche, en lien avec le traitement antibiotique, chez les ovins ou les bovins. Le Tableau 28 reprend ces facteurs de risque dans les principaux essais chez les ovins et les bovins. Le facteur de risque qui est le plus retrouvé (3 articles sur 7) est le rang de lactation, suivi du mois de mise bas (2 articles sur 7).

Tableau 28: Facteurs de risque de mammites décrits dans la littérature lors d'essais sur le traitement au tarissement chez les ovins et les bovins.

Références	Variable expliquée	Facteurs de risque	OR
GONZALO, 2004	Prévalence des infections mammaires au cours de la campagne N+1 (ovins)	Antibiothérapie intra-mammaire au tarissement (absence / exhaustive ou sélective)	/
		Rang de lactation (augmentation progressive du rang 2 au rang 6 et +)	/
		Stade de lactation (mise bas et fin de lactation / milieu de lactation)	/
		Antibiothérapie x rang de lactation	/
GONZALO, 2009	Comptages cellulaires sur lait de tank (log) (ovins)	Antibiothérapie intra-mammaire au tarissement (absence / exhaustive)	/
		Système de traite (traite manuelle / traite automatisée)	/
		Antibiothérapie x système de traite	/
BAREILLE, 2003	Nouvelles infections en début de campagne N+1 (bovins)	Mois de vêlage (décembre à février / octobre et novembre)	1,59 [1,09 – 2,31]
		Facilité de vêlage (avec aide facile ou vêlage difficile ou césarienne / sans aide)	1,55 [1,13 – 2,13]
		Etat de propreté de la mamelle au vêlage (mamelle avec des traces de bouse ou très sale / propre)	1,50 [1,01 – 2,32]
		Taux d'urée dans le lait 15 jours après vêlage (entre 150 et 250 mg/ml ou moins de 150 mg/ml / plus de 250 mg/ml)	1,50 [1,06 – 2,12]
			1,72 [1,08 – 2,73]
		1,74 [1,17 – 2,60]	
		1,56 [1,01 – 2,44]	

		Fréquence et hygiène des premiers jets (systématique sur le sol / systématique dans un bol)	1,72 [1,13 – 2,61]
		Couverture de l'aire d'exercice (non couverte / couverte)	1,64 [1,07 – 2,50]
		Surface de l'aire paillée par vache en lactation (mois de 6 m ² / plus de 7,5 m ²)	1,54 [1,04 – 2,27]
		Fréquence de paillage de l'aire paillée de vaches en lactation (1 fois par jour maximum / 2 fois par jour)	1,70 [1,20 – 2,43]
PANTOJA, 2009	Apparition d'une mammite clinique à la campagne N+1 (bovins)	Antécédents de mammites (au moins 1 antécédent de mammite à la campagne N / aucun antécédent)	4,2 [1,8 - 10,0]
		Rang de lactation (vaches de rang > 4 / vaches de rang <=4)	4,2 [1,4 - 10,0]
		Comptages cellulaires (quartiers avec comptages cellulaires >= 200 000 cell/ml au tarissement et au sevrage / quartiers < 200 000 cell/ml aux deux dates)	2,7 [0,97 - 7,67]
CAMERON, 2013	Infections en début de campagne N+1 (bovins)	Position du quartier (derrière / devant)	1,36 [1,05 – 1,75]
		Mois du vêlage (été ou automne / hiver)	1,95 [1,21 – 3,15] 1,75 [1,10 – 2,78]
ROBERT, 2008	Nouvelles infections en début de campagne N+1 (en absence de traitement) (bovins)	Statut au tarissement (vaches infectées au tarissement / vaches non infectées)	1,58 [1,47 - 1,69]
		Durée de lactation N (>355 jours / entre 305 et 355 jours)	1,62 [1,62 - 1,62]
		Durée de la période sèche (>65 jours ou <=65 jours)	1,46 [1,35 - 1,59]
WHIST, 2006	Apparition d'une mammite clinique à la campagne N+1 (bovins)	Rang de lactation (vaches de rang 2, 3 ou >3 / vaches de rang = 1)	1,19 [1,03 – 1,36] 1,42 [1,24 – 1,63] 1,68 [1,47 – 1,93]

Dans notre étude, nous mettons en évidence un certain nombre de facteurs associés qui varient en fonction du critère considéré. En ne prenant que les facteurs significatifs, nous obtenons la liste suivante (les facteurs avec un astérisque sont les facteurs également retrouvés dans la littérature) :

- facteurs influençant le taux de nouvelles infections (critère 1) : lot de mise bas à la campagne N, rang de lactation* et traitement antibiotique*,
- facteurs influençant le taux de nouvelles infections (critère 4) : taux d'urée dans le lait au tarissement*,
- facteurs influençant le taux de nouvelles infections (critère 6) : comptages cellulaires de la campagne N* et lot de mise bas à N+1*,
- facteurs influençant le taux de guérison (critère 6) : ancienneté de l'infection à la lactation N et index cellulaire.

La liste de ces facteurs est à prendre avec précaution car des biais sont possibles, ainsi que l'interaction avec d'autres facteurs non étudiés dans notre étude.

Il apparaît intéressant de discuter les tendances obtenues pour les nouvelles infections, en les comparant à celles retrouvées dans la littérature :

- rang de lactation : c'est un facteur qui revient souvent dans la littérature, avec un taux de nouvelles infections, ou une prévalence de mammites à la campagne laitière N+1, plus élevés à mesure que le rang de lactation augmente. Dans notre étude, nous observons que ce sont les brebis de rang 1 (au début de l'essai) qui sont les plus à risque (contrairement aux résultats déjà observés), suivis des brebis de rang 3 et plus.
- lot de mise bas à N : ce facteur a également une influence sur le taux de nouvelles infections, les brebis ayant mis bas tardivement à la lactation N ont plus de risque de s'infecter à la lactation suivante que celles ayant mis bas lors du pic d'agnelage. Cela peut s'expliquer par une différence de stade de lactation au moment du tarissement, les brebis ayant mis bas tardivement n'étant pas complètement tarées à mi-juillet.
- le taux d'urée dans le lait au tarissement : là encore, les résultats ne rejoignent pas ceux de la littérature : BAREILLE *et al*, 2003, ont montré chez les bovins, que les animaux les plus à risque de nouvelles infections étaient ceux présentant un taux d'urée élevé, celui-ci ayant été calculé au moment de la mise bas (et non au moment du tarissement comme dans notre étude). Nous trouvons au contraire que les brebis avec un taux d'urée faible (<225mg/ml) sont plus à risque que les autres. Ce point devra être confirmé dans d'autres élevages, et interprété en tenant compte de l'effet

concentration lié aux deux types de sous-production, physiologique (fin de lactation) et infectieuse.

- l'aire sous la courbe des comptages cellulaires à la lactation N : nous constatons également que les brebis avec une aire sous la courbe faible sont plus à risque que les autres. Ce résultat semble s'opposer en partie à ceux retrouvés dans la littérature (les brebis ayant déjà eu une infection au cours de la lactation N sont plus à risque d'en présenter une à la lactation suivante). Le résultat que nous obtenons semble au contraire devoir être mis en relation avec l'immunité adaptative des brebis.
- lot de mise bas à N+1 : ce facteur de risque est déjà retrouvé dans la littérature. Les brebis avec des mises bas tardives (lots 2, 3 et 4) sont plus à risque que les autres. Cela peut s'expliquer car la pression d'infection est plus forte pour ces brebis. Ce facteur est d'ailleurs mis en évidence pour le critère 6 (bactériologique), ce qui va dans le sens d'une présence de germes plus importante chez les brebis décalées, même si l'infection est transitoire.

5. Conséquences opérationnelles

o Antibiothérapie intra-mammaire au tarissement

La mise en place d'un traitement sélectif poussé ou très poussé (lots B et C), comme nous l'avons pratiqué, pourrait représenter une prise de risque dans certains élevages, sur le plan de mammites cliniques et, de façon moins nette, sur les comptages cellulaires. Cela n'est *a priori* pas lié à des infections mal éliminées, mais plutôt à de nouvelles infections du *peri* ou *post partum*.

En l'absence d'effet net des autres mesures de prévention des mammites (comme l'antisepsie), le traitement sélectif poussé (ciblé exclusivement sur les glandes mammaires infectées) ne devrait être conseillé que dans les élevages où les facteurs de risque sont maîtrisés (contrôle Optitraite, technique de traite adaptée, absence de thélites infectieuses, bergerie et salle de traite propres, plan d'alimentation équilibré et validé...).

Dans les autres, un traitement sélectif moins restrictif, englobant un plus large nombre d'animaux à traiter, pourra être proposé (voir ci-dessous « Stratégies de contrôle des mammites et mesures de prévention associées »).

Nos résultats sont cependant à prendre avec précaution car l'étude n'a porté que sur un seul élevage ; les variations inter-élevages sont importantes, comme montré dans la littérature (RAJALA-SCHULTZ, 2011). De plus, une évaluation économique serait à envisager pour déterminer le coût d'un traitement préventif au tarissement versus un traitement sur les femelles infectées.

○ *Antisepsie*

Une étude plus complète serait nécessaire pour définir exactement les mesures à conseiller ; mais les résultats que nous avons pu mettre en évidence (bien que non significatifs) et les résultats des études chez la vache laitière encouragent à mettre en place un post-trempe dès la première traite et pendant le premier tiers de la lactation pour couvrir les périodes les plus à risque. L'antisepsie des trayons devrait être conseillée en particulier :

- dans les élevages à forte pression d'infection,
- lors de présence importante d'agneaux tétant plusieurs femelles (agneaux « voleurs » de lait qui peuvent transmettre des infections),
- lors de présence de thélites infectieuses (*Ecthyma* ou *S. aureus*),
- sur les femelles n'ayant pas reçu d'antibiothérapie intra-mammaire.

○ *Stratégies de contrôle des mammites et mesures de prévention associées*

Les résultats de notre étude, comparés à ceux obtenus dans la littérature, aussi bien chez les ovins et les bovins, permettent de mettre en évidence plusieurs points importants concernant la gestion des mammites :

- l'antibiothérapie intra-mammaire au tarissement est une mesure efficace qui permet de diminuer la prévalence des mammites, avec un taux de guérison significativement plus élevé que le taux de guérison spontanée.

- l'utilisation d'un traitement sélectif peut être recommandée car elle permet de réduire l'utilisation des antibiotiques sans avoir de variations significatives de la production laitière et des comptages cellulaires au cours de la lactation suivante.
- les limites du traitement sélectif ciblé sur les glandes mammaires infectées sont relatives à la prévention des nouvelles infections. Un ciblage complémentaire de mamelles saines mais « à risque » devrait être proposé ; la nature et le pourcentage des brebis concernées doit être raisonné en fonction des types d'élevages.

Ainsi, il est légitime d'opérer une sélection plus large des animaux à traiter, en prenant en compte les facteurs de risque de nouvelles infections. Certaines brebis saines au tarissement, mais plus à risque, pourraient être traitées. En se fondant sur les résultats de notre étude, le choix de ces brebis pourrait être le suivant :

- primipares et brebis avec un rang de lactation élevé (>3),
- brebis ayant mis bas tardivement à la campagne N (ou présentant régulièrement des problèmes de fertilité sur insémination),
- brebis avec des comptages cellulaires faibles au cours de la campagne N (aire sous la courbe <13).

Néanmoins, ces facteurs de risque sont à prendre avec précaution, notamment car ils ont été étudiés indépendamment les uns des autres. Dans la suite de nos travaux (non réalisée au moment de l'impression), une étude statistique plus large est prévue, intégrant les interactions entre les différentes variables (facteurs). Certains facteurs, non mis en évidence dans notre étude, pourraient alors devenir significatifs, comme cela déjà été mis en évidence dans d'autres études (GONZALO, 2004).

CONCLUSION

Dans le contexte global du plan de réduction national de l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire (Ecoantibio 2017), la présente étude abordait la problématique de l'évolution de l'efficacité globale du traitement préventif au tarissement lorsque la stratégie passe d'un traitement exhaustif à un traitement sélectif. Dans ce cadre, nous avons évalué ici le premier niveau logique de sélection au travers du traitement ciblé des glandes mammaires infectées.

La spécialité utilisée devait être adaptée aux ovins laitiers, caractérisés en particulier par une période sèche allant de 3 à 5 mois, et être dotée d'une AMM dans cette espèce. Nous avons donc utilisé le Nafpenzal[®]T, dont la rémanence atteint 98 jours chez les ovins (BAREILLE et COX, 2005a). Sa composition associe la benzylpénicilline, la nafcilline et la dihydrostreptomycine.

Notre étude peut être découpée en trois parties.

1. L'évaluation de l'efficacité curative et préventive de l'antibiothérapie intra-mammaire au tarissement a été effectuée en deux étapes.

- En considérant les mamelles et héli-mamelles indépendamment de la stratégie de ciblage, et simplement regroupées en infectées traitées et, d'autre part, en non infectées traitées ou non traitées, nous obtenons respectivement une évaluation de l'efficacité curative et de l'efficacité préventive avec groupe témoin.

Le premier point (efficacité curative) n'apporte pas d'élément nouveau ou significatif par construction même du protocole, conçu qualitativement et quantitativement pour l'évaluation de l'efficacité préventive. La guérison clinique, cellulaire et bactériologique est simplement confirmée, ce que la bibliographie et nos travaux avaient déjà établi (à des taux élevés et très significatifs par rapport aux groupes non traités, compris entre 65 et 95% de guérison bactériologique).

Le second point (efficacité préventive comparée entre groupe traité et témoin non traité) apporte en revanche des précisions par rapport à la littérature et aux dossiers d'AMM privilégiant en général l'intérêt curatif du traitement.

Même en élaborant six critères différents pour caractériser le statut des mamelles (ou hémi-mamelles) avant et après traitement, qu'ils soient bactériologiques (PCR), cliniques et/ou cellulaires, les résultats sont univoques : dans nos conditions, la prévention des nouvelles infections *post partum* est meilleure dans le groupe traité que dans le groupe témoin non traité, mais la différence est non significative (au seuil de $p=0,05$) pour quatre critères sur cinq (pour lesquels elle est significative au seuil de $p=0,1$). Seul le critère clinique montre un taux de prévention des mammites significativement supérieur dans le groupe traité ($p=0,048$), mais cette différence s'efface si l'on considère les mammites cliniques marquées mais aussi discrètes.

Les taux de nouvelles infections dans le groupe traité vont de 7 à 16% en fonction du critère utilisé, contre 12 à 24% dans le groupe témoin (gamme de valeur conforme à la bibliographie : 3 à 25% de nouvelles infections après traitement intra-mammaire).

A l'échelon intra-troupeau, nos effectifs étaient appropriés à la mise en évidence de ce type de résultats préventifs ; ils demandent cependant une confirmation dans d'autres situations épidémiologiques ou de conduite.

- En considérant les traitements en fonction de la stratégie de ciblage, nous avons comparé le traitement exhaustif, pris comme témoin, au traitement sélectif de deux ordres : ciblage des mamelles ou des hémi-mamelles infectées.

Les efficacités curatives ne montrent, comme prévu, pas de différence significative (effectifs restreints).

Les efficacités préventives ont été évaluées d'une part sur la période de l'allaitement et des trois premiers mois de lactation, et d'autre part sur l'ensemble de la campagne suivant le traitement.

Dans le premier cas, l'utilisation de nos six critères cliniques, cellulaires et bactériologiques montre, dans tous les cas, un taux de nouvelles infections plus réduit

dans le lot traité exhaustivement que dans les deux autres. Cette différence n'est cependant significative (faiblement) que pour les deux critères utilisant la symptomatologie clinique ($p=0,02$ à $0,06$). L'évaluation bactériologique montre des résultats très proches entre les trois lots.

Par ailleurs, l'étude des résultats sur l'ensemble de la campagne suivant les traitements a permis d'obtenir un résultat inverse : le lot traité sélectivement à l'échelon des hémimamelles a présenté la production laitière la plus forte et des comptages cellulaires très proches du lot traité exhaustivement (différences non significatives).

Ainsi, dans nos conditions, le gain lié au traitement exhaustif apparaît donc de façon faiblement significative, pour deux critères sur six, au cours du premier tiers de lactation ; il paraît effacé au total. D'autre part, les performances zootechniques et leur impact financier (paiement du lait à la qualité), au travers du lait et des comptages cellulaires, ne paraissent pas affectées par un ciblage du traitement sur les infections existantes. Les efficacités préventives des deux lots traités sélectivement sont très proches (aucune différence significative).

Ces résultats dans leur ensemble ont été discutés sur le plan de la validation des différentes stratégies de traitement :

- l'antibiothérapie intra-mammaire pouvait déjà être considérée, sur un plan curatif, comme très efficace (à la posologie d'une seringue par hémimamelle). Si elle est mise en œuvre avec une spécialité à longue durée d'action, elle peut de plus être considérée comme modérément efficace sur un plan préventif. Cela signifie que la différence (par rapport à un lot témoin) sera plus ou moins significative en fonction du critère d'évaluation considéré et de caractéristiques propres aux élevages (pouvant inclure les agents infectieux, la durée moyenne de la période sèche et l'étalement des mises bas, la prévalence des infections mammaires, les facteurs de risques associés,...),
- d'autre part, le traitement exhaustif, comparé aux deux traitements sélectifs, a obtenu les meilleurs taux de prévention ; les traitements sélectifs sont cependant

associés, dans notre élevage, à un bilan productif annuel (campagne) non significativement différent du premier.

Il en découle donc que notre étude n'a pu invalider, sur le plan de l'efficacité antibactérienne, l'une ou l'autre des options testées : différentes stratégies de traitement s'offrent donc aux éleveurs et vétérinaires qui pourront privilégier au moment du choix les caractéristiques épidémiologiques du troupeau (prévalence, facteurs de risque, voire étiologie), les questions de coût et la nécessaire réduction du volume des antibiotiques administrés.

2. L'évaluation de l'efficacité préventive de l'antisepsie des trayons a été conduite, en complément de l'antibiothérapie, en période *post partum*.

L'objectif était ici de compléter l'action préventive des antibiotiques pour la période à risque la plus éloignée de leur administration. Notre protocole avait une puissance limitée (interaction entre antibiothérapie et antisepsie, un seul trayon concerné par brebis, et surtout présence des agneaux empêchant toute action antiseptique durable), et son observance n'a pu être complète du fait d'un certain étalement des mises bas. Malgré cela, nous avons obtenu des différences non significatives, mais univoques, en faveur de cette pratique : pour les hémimamelles non traitées, l'antisepsie a été associée à une réduction du taux de nouvelles infections allant de 0 à 8% (critères cliniques, cellulaires ou bactériologiques). Pour les hémimamelles traitées, le gain a été compris entre 0 à 6%.

Dans nos conditions, le caractère additif ou synergique des deux approches de prévention n'a pas été démontré. Cette pratique devrait cependant être évaluée à nouveau dans d'autres élevages et peut-être de façon plus ciblée : mises bas tardives (retours en chaleur), brebis à risque, pression d'infection ou exposition plus fortes (et élevages hors AOC ne pratiquant pas l'allaitement d'un mois).

3. L'identification des facteurs associés à la dynamique des infections a été effectuée par calcul de risques relatifs.

Outre l'antibiothérapie, trois groupes de facteurs sont significativement associés à l'apparition de nouvelles infections ou à l'élimination des infections existantes :

- facteurs propres aux animaux : index génétique cellulaire, rang de lactation
- production durant la campagne précédant le tarissement : production laitière, urée du lait, rang de mise bas
- facteurs infectieux (profil cellulaire durant la campagne) : ancienneté des infections, durée des infections (ou aire sous la courbe).

Parmi ceux-ci, dix facteurs sont associés à l'apparition de nouvelles infections (risques relatifs [RR] compris 1,2 et 6) et cinq à l'élimination des infections existantes (RR compris 1,5 et 12,8). Les principaux facteurs associés à l'apparition de nouvelles infections sont les suivants : rang de lactation (RR 2,2), production laitière (3,3), urée du lait (6), rang de mise bas (5,3), profil cellulaire (3,4).

Pour les mamelles présumées non infectées en fin de lactation (comptages cellulaires), certains de ces facteurs pourraient, après validation dans diverses situations d'élevages, être utilisés afin d'identifier des brebis « à risque ». Celles-ci pourraient faire l'objet d'une antiseptie des trayons ou d'une antibiothérapie au tarissement si la situation épidémiologique de l'élevage (prévalence des infections mammaires, non maîtrise de facteurs de risque importants) justifie l'extension du traitement sélectif des mamelles infectées aux mamelles présumées saines mais « à risque ».

Finalement, notre travail a permis de mener en parallèle l'évaluation de l'efficacité comparée des traitements exhaustif et sélectifs et, d'autre part, l'identification des facteurs associés à l'un des points-clefs chez les ovins laitiers : l'apparition de nouvelles infections *post partum*. Cette seconde partie sera poursuivie et amplifiée en élevages commerciaux afin de permettre, dans les situations qui l'exigent, la mise en œuvre de mesures de prévention ciblée. Cette évolution vers un traitement sélectif validé et raisonné dans chaque élevage, ainsi que vers des brebis Lacaune plus résistantes aux infections mammaires grâce à la sélection

génétique fondée sur les comptages cellulaires, repose en grande partie sur ce dernier paramètre biologique. L'utilisation des comptages cellulaires individuels doit donc être amplifiée chez les ovins laitiers, que ce soit dans le cadre du contrôle laitier ou en dehors, afin de pouvoir valoriser au mieux les innovations actuelles ou futures en matière de stratégies thérapeutiques ou prophylactiques.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Dominique BERGONIER**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Claire ROBIN** intitulée « *Antibiothérapie intramammaire au tarissement : évaluation de l'efficacité du traitement sélectif (ovins laitiers)* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 17 novembre 2015
Professeur Dominique BERGONIER
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu ;
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITTEIN

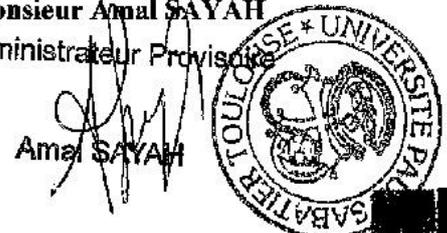


Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Eric OSWALD**
Chef de Service
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène
Institut Fédératif de Biologie
330 av. de Grande Bretagne - TSA 40031
31059 TOULOUSE CEDEX 9

Mlle ROBIN Claire
a été admis(e) sur concours en : 2010
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 26/06/2015
a validé son année d'approfondissement le : 24/09/2015
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu et autorisation de l'impression :
Administrateur Provisoire de
l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Amal SAYAH
L'Administrateur Provisoire

Amal SAYAH

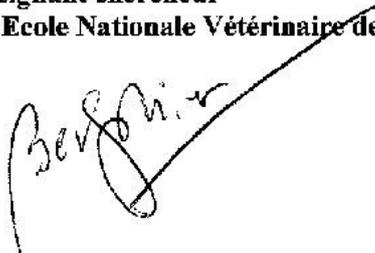


AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Dominique BERGONIER**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Flora VALETTE** intitulée « **Antibiothérapie intramammaire au tarissement : évaluation de l'efficacité du traitement sélectif (ovins laitiers)** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 17 novembre 2015
Professeur Dominique BERGONIER
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMIPÉLÉ



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Eric OSWALD
Chef de Service
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène
Institut Fédératif de Biologie
330 av. de Grande Brogne - TSA 40031
31059 TOULOUSE CEDEX 9

Mlle Flora VALETTE
a été admis(e) sur concours en : 2010
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 26/06/2015
a validé son année d'approfondissement le : 24/09/2015
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu et autorisation de l'impression :
Administrateur Provisoire de
l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Amal SAYAH
Administrateur Provisoire



Amal SAYAH



Bibliographie

- AHMAD G, TIMMS LL, MORRICAL DG, BRACKELSBURG PO. 1992.** Ovine subclinical mastitis: efficacy of dry treatment as a therapeutic and prophylactic measure. *Sheep Research Journal*. 1992, Vol. 8, 1, pp. 30-33.
- BAREILLE N, DJABRI B, BEAUDEAU F, SEEGER H. 2003.** Risk factors for clinical mastitis and for new intramammary infection in dairy hifers around calving. *Rencontres des Recherches sur les Ruminants*, 2003, Vol. 10, pp. 285-288.
- BAREILLE S, COX P. 2005a.** NAFPENZAL(R) T: un profil pharmacocinétique et pharmavodynamique particulièrement adapté pour le tarissement des brebis. *Dossier technique NAFPENZAL(R) T chez la brebis laitière*. 2005a, pp. 1-8.
- BAREILLE S, COX P. 2005b.** Synthèse de l'efficacité du traitement au tarissement des brebis avec Nafpenzal(R)T. *Dossier technique NAFPENZAL(R) T chez la brebis laitière*. 2005b, pp. 9-22.
- BARILLET F, RUPP R, MIGNON-GASTREAU S, ASTRUC JM, JACQUIN M. 1999.** Genetic analysis for mastitis resistance and somatic cell score in French Lacaune dairy sheep. *Proceedings of the 6th International Selection on the Milking of Small Ruminants*. 1999, Athens, Greece, pp. 393-399.
- BARKEMA HW, SCHUKKEN YH, LAM TJGM, BEIGBOER ML, BENEDICTUS G, BRAND A. 1999.** Management Practices Associated with Low, Medium, and Hight Somatic Cell counts in Bulk Milk. *Journal of Dairy Science*. 1999, 82, pp. 1643-1654.
- BERGONIER D, Van De WIELE A, ARRANZ JM, BARILLET F, LAGRIFFOUL G, CONCORDET D, BERTHELOT X. 1994.** Detection of subclinical mammary infections in the ewe by mean of somatic cell counts: proposal of physiological thresholds. *Symposium on Somatic Cells and Milk of Small Ruminants*. 1994, pp. 41-47.
- BERGONIER D, BERTHELOT X, LAGRIFFOUL G, BARILLET F, RUBINO R. 1996.** Facteurs de variation non infectieux des comptages de cellules somatiques chez les ovins et caprins laitiers. *EEAAP Publication*. 1996, 77.
- BERGONIER D, De CREMOUX R, RUPP R, LAGRIFFOUL G and BERTHELOT X. 2003.** Mastitis in Dairy Smal Ruminants. *Veterinary Research*. Septembre-Octobre 2003, 34 (5), pp. 689-716.

- BERGONIER D. 2005.** Les mammites de la brebis laitières : diagnostic et maîtrise. *Recueil INTERVET*. 2005, pp. 28-43.
- BERGONIER D, BERTHELOT X. 2006.** Mammites cliniques : interprétation des résultats bactériologiques. *Nouveau praticien vétérinaire élev. santé*. 2006, 2, pp. 145-152.
- BERGONIER D, de CREMOUX R, BERTHELOT X. 2010.** Spécificités du traitement au tarissement chez les petits ruminants. *Bulletin des GTV*. 2010, 56, pp. 215-216.
- BERRY EA, HILLERTON JE. 2002.** The effect of Selective Dry Cow Treatment on New Intramammary Infections. *Journal of Dairy Science*. 2002, 85 (1), pp. 112-121.
- BERRY EA, JOHNSTON WT, HILLERTON JE. 2003.** Prophylactic Effects of Two Selective Dry Cow Strategies Accounting for Interdependence of Quarter. *Journal of Dairy Science*. 2003, 86 (12), pp. 3912-3919.
- BOGOLIN I, VASIU C. 2008.** Treatment of subclinical intramammary infections in small ruminants. *Veterinary Medicine*. 2008, Vol. 65, 2, pp. 298-303.
- CAMERON M, Mc KENNA SL, Mac DONALD KA, DOHOO IR, ROY JP, KEEFE GP. 2014.** Evaluation of Selective dry cow treatment following on-farm culture: Risk of postcalving intramammary infection and clinical mastitis in the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science*. Janvier 2014, 97 (1), pp. 270-284.
- CAMERON M, KEEFE GP, ROY JP, DOHOO IR, McKENNA SL. 2015.** Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Milk yield and somatic cell count in the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science*. 2015, Vol. 98, 4, pp. 2427-2436.
- CEDERLOF SE, TOFT N, AALBAEK B, KLAAS IC. 2012.** Latent class analysis of the diagnostic characteristics of PCR and conventional bacteriological culture in diagnosing intramammary infections caused by *Staphylococcus aureus* in dairy cows at dry off. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2012, Vol. 54, 65.
- CHAFFER M, LEITNER G, ZAMIR S, WINKLER M, GLICKMAN A, ZIV N, SARAN A. 2003.** Efficacy of dry-off treatment in sheep. *Small Ruminants Research*. 2003, Vol. 47, pp. 11-16.
- CONTE, A. 2007.** Efficacité de l'antibiothérapie intra-mammaire au tarissement: essai clinique chez la brebis laitière. *Thèse vétérinaire*. 2007, Vol. 4007.

- CONTRERAS A, SIERRA D, SANCHEZ A, CORRALES JC, MARCOC JC, PAAPE MJ, GONZALO C. 2007.** Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research*. 2007, 68, pp. 145-153.
- De La CRUZ M, SERRANO E, MONTORO V, MARCO J, ROMEO M, BASELGA R, ALBIZU I, AMORENA B. 1994.** Etiology and prevalence of subclinical mastitis in the Manchega sheep at midlate lactation. *Small Ruminants Research*. 1994, 14, pp. 175-180.
- ESNAL A, ROMERO M, EXTRAMANIA B, GONZALEZ L, MARCO JC. 1994.** Mamitis en la oveja Latxa: eficacia del tratamiento y dinamica de infeccion durante el periodo seco. *XIX Jornadas Cientificas Sociedad Espanola Ovinotechnica Caprinotechnica*. 1994, pp. 45-49.
- FTHENAKIS GC, EL-MASANNAT ETS, BOOTH JM, JONES JET. 1991.** Somatic cell count of ewes milk. *British Veterinary Journal*, 1991, 147, pp. 575-581.
- GONZALO C, TARDAGUILA JA, De La FUETNE LF, SAN PRIMITIVO F. 2004.** Effects of selective and complete dry therapy on prevalence of intramammary infection and on milk yield in the subsequent lactation in dairy ewes. *Journal of Dairy Research*. Février 2004, 71 (1), pp. 33-38.
- GONZALO C, LINAGE B, CARRIEDO JA, JUAREZ MT, BENEITEZ E, MARTINEZ A, DE LA FUENTE LF. 2009.** Short communication: Effect of dry therapy using an intramammary infusion on buk tank somatic cell count in sheep. *Journal of Dairy Science*. 2009, Vol. 92, pp. 156-159.
- HALASA T, OSTERAS O, HOGVEEN H, Van WERVEN T, NIELEN M. 2009.** Meta-analysis of dry cow management for dairy cattle. Part 1 Protection against new intramammary infections. Part 2 Cure of existing intramammary infections. *Journal of Dairy Science*. Juillet 2009, 92 (7), pp. 3134-3157.
- HARIHARAN H, DONACHIE W, MACALDOWIE C, KEEFE G. 2004.** Bacteriology and somatic cell counts in milk samples from ewes on a scottish farm. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 2004, Vol. 68, 188-192.
- HENDY PG, PUGH KE, HARRIS AM. 1981.** Prevention of post weaning mastitis in ewes. *The Veterinary Record*. 1981.

- HUESTON WD, BONER GJ, BAERTSCHE SL. 1989.** Intramammary antibiotic treatment at the end of lactation for prophylaxis and treatment of intramammary infections in ewes. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1989, 194 (8), pp. 1041-1044.
- HUIJPS K, HOGVEEN H. 2007.** Stochastic Modeling to Determine the Economic Effects of Blanket, Selective, and No Dry Cow Therapy. *Journal of Dairy Science*. Mars 2007, 90 (3), pp. 1225-1234.
- IDF-FIL (International Dairy Federation - Fédération Internationale de Laiteries). 1991.** Milk enumeration of somatic cells. *Internationa IDF Standard 148*. 1991.
- JONES JET. 1991.** Mastitis in sheep. *Breeding for disease resistance in farm animals*, 1991, Ed. Owen, J.B. Axford, R.F.E. CAB International, Wallingford, UK, pp. 412-423.
- KEANE O, BUDD KE, FLYNN J, McCOY F. 2013.** Increased detection of mastitis pathogens by real-time polymerase chain reaction compared to bacterial culture. *Veterinary record*. 2013, pp. 173-268.
- KIRK JH, GLENN JS, MAAS JP. 1996.** Mastitis in a flock of milking sheep. *Small Ruminant Research*. Elsevier, 1996, 22, pp. 187-191.
- LAGRIFFOUL G. 2005.** La maîtrise des infections mammaires ovines : un enjeu de filière. *Recueil INTERVET*. 2005.
- LINAGE B, GONZALO C. 2008.** Influence of an intramammary infusion at drying-off of combined penethamate hydriodide, benethamine penicillin, and framycetin sulfate on intramammary infections and somatic cell counts in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*. 2008, Vol. 91, pp. 3459-3466.
- LOHUIS J, POUTREL B, DE CREMOUX R, PAREZ V, AGUER D. 1995.** Milk residues of penicillin, nafcillin and dihydrostreptomycin in dairy goats postpartum treated milk Nafpenzal N8R at drying-off. *The 3rd Int. Mastitis Seminar*. 1995, Vol. S5, pp. 102-103.
- LONGO F, BEGUIN JC, MONSALLIER G, DELAS P, CONSALVI PJ. 1996.** Efficacy of spiramycin and neomycin combination in the control of cell counts and udder pathogens in the dry ewes. *Proceedings of the International Symposium on Somatic Cells and Milk of Small Ruminants*. 1996, Rubino, R. (Ed), pp. 49-52.
- LONGO F, PRAVIEUX JJ. 2001.** Traitement des brebis au tarissement : CEFOVET(R) HL, première AMM pour ovins. *Proceedings of the Journées Nationales GTV*. 2001, pp. 301-302.

- MALINGUE P, BERGONIER D. 2006.** Caractérisation clinique et étiologique des mammites en élevage ovin laitier. *Thèse vétérinaire*. 2006.
- MARCO JC. 1994.** Mamitis en la oveja Latxa: epidemiologia, diagnostico y control. *Tesis Doctoral*. 1994.
- MARCO JC, ROMERO M, ZILUAGA I, AMORENA B, ESNAL A, GONZALES L. 1999.** Medidas generales para el control de las mamitis ovinas. *Ovis*. 1999, Vol. 60, pp. 45-67.
- MAVROGIANNI VS, MENZIES PI, FRAGKOU IA, FTHENAKIS GC. 2011.** Principles of mastitis treatment in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 27, 2011. pp. 115-120.
- MUNOZ BIELSA J, NELL T, BERGONIER D, BOURRRY A, DE SA C, COX P. 2005.** Efficacy of NAFPENZAL(R) DC for drying-off treatment of udder infections in dairy sheep. *Proceedings of the Sixth International Sheep Veterinary Congress*. 2005, pp. 364-365.
- OLIVER SP, KING SH, LEWIS MJ, TORRE PM, MATTHEWS KR, DOWLEN HH. 1990.** Efficacy of chlorhexidine as a postmilking teat disinfectant for the prevention of bovine mastitis during lactation. *Journal of Dairy Science*. Aout 1990, 73 (8), pp. 2230-2235.
- OLIVER SP, LEWIS MP, GILLESPIE BE, IVEY SJ, COLEMAN LH, ALMEIDA RA, FANG W, LAMAR K. 1999.** Evaluation of a post-milking teat disinfectant containing a phenolic combinaison for the prevention of mastitis in lactating cow. *Journal of Food Protection*, 1999, 62, pp. 1354-1357.
- OSTERAS O, EDGE VL, MARTIN SW. 1999.** Determinants of Success or Failure in the Elimination of Major Mastitis Pathogens in Selective Dry Cow Therapy. *Journal of Dairy Science*. 1999, 82 (6), pp. 1221-1231.
- PENGOY A. 2001.** The role of coagulase negative Staphylococcus spp. and associates somatic cell counts in the ovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*. 2001, 84, pp. 572-574.
- PERIS C, DIAZ JR, BALASCH S, BELTRAN MC, MOLINA MP, FERNANDEZ N. 2003.** Influence of vacuum level and overmilk on udder health and teat thicness changes in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*. Dec 2003, 86 (12), pp. 3891-3898.
- PETRIDIS IG, MAVROGIANNI VS, GOUGOULIS DA, AMIRIDIS GC, BROZOS C, FTHENAKIS GC. 2012.** Effects of drying-off procedure of ewes'udder, with intramammary

antibiotic administration, in subsequent mammary infection and development of mastitis. *Zentralbl Veterinarmed B.* 2012, 63 (4), pp. 273-282.

RAJALA-SCHULTZ PJ, TORRES AH, DEGRAVES FJ. 2011. Milk yield and somatic cell counts during the following lactation after selective treatment of cows at dry-off. *Journal of Dairy Research.* Novembre 2011, 78 (4), pp. 489-499.

ROBERT A, BAREILLE N, ROUSSEL P, POUTREL B, HEUCHEL V, SEEGER H. 2006. Interdependance of udder quarters for new intramammary infection during the dry period on cows submitted to selective antibiotic therapy. *Journal of Dairy Research.* Août 2006, 73 (3), pp. 345-352.

ROBERT A, ROUSSEL P, BAREILLE N, RIBAUD D, SERIEYS F, HEUCHEL V, SEEGER H. 2008. Risk factors for new intramammary infections during the dry period in untreated dairy cows from herds using selective dry cow therapy. *Animal.* Février 2008, 2 (2), pp. 247-254.

ROVAI M, CAJA G, SALAMA AA, JUBERT A, LAZARO B, LAZARO M, LEITNER G. 2014. Identifying the major bacteria causing intramammary infections in individual milk samples of sheep and goats using traditional bacteria culturing and real-time polymerase chain reaction. *Journal of Dairy Science.* Septembre 2014, Vol. 97(9), 5393-5400, pp. 5393-5400.

RUPP R. 2003. Variation des comptages de cellules somatiques durant l'allaitement-traite et le début de la traite excessive. Variations des comptages de cellules somatiques au cours de la lactation. *Rapport final du Programme européen FAIR 1 CT 95-0881 "Stratégies de contrôle en ferme des comptages de cellules somatiques du lait de brebis et de chèvre"*, 2003.

SAINI V, Mc CLURE JT, SCHOLL DT, De VRIES TJ, BARKEMA HW. 2012. Herd level association between antimicrobial use and antimicrobial resistance in bovine mastitis *Staphylococcus aureus* isolates on Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science.* 2012, 95 (4), pp. 1921-1929.

SAINI V, Mc CLURE JT, SCHOLL DT, De VRIES TJ, BARKEMA HW. 2013. Herd-level relationship between antimicrobial use and presence or absence of antimicrobial resistance in gram-negative bovine mastitis pathogens on Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science,* 2013, pp. 4965-76.

- SCHERPENZEEL CG, DEN UIJL IE, Van SCHAIK G, OLDE RIEKERINK RG, KEURENTJES JM, LAM TJ. 2014.** Evaluation of the use of dry cow antibiotics in low somatic cell counts cows. *Journal of Dairy Science*. Juin 2014, 97 (6), pp. 3606-3614.
- SEEGERS H, ROBERT A, BILLON D, ROUSSEL P, SERIEYS F, LE GUENIC M, BAUDET H, HEUCHEL V, BAREILLE N. 2006.** Evaluation économique de règles de traitement sélectif au tarissement selon les contextes épidémiologiques de santé des mamelles en troupeaux laitiers : étude par simulation. 2006, 13, pp. 435-438.
- SEEGERS H, BILLON D, ROUSSEL P, SERIEYS F, LE GUENIC M, BAREILLE N. 2010.** Choix d'une stratégie de traitement des vaches laitières au tarissement. *SGTV 2010*. 2010.
- SHWIMMER A, KENIGSWALD M, VAN STRATEN M, LAVI Y, MERIN U, WEISBLIT G. 2008.** Dry-off treatment of Assaf sheep: efficacy as a management tool for improving milk quantity and quality. *Small Ruminants Research*. 2008, Vol. 74, 1-3, pp. 45-51.
- SPANU C, BERGER YM, THOMAS DL., 2011.** Impact of intramammary antimicrobial dry treatment and teat sanitation on somatic cell count and intramammary infection in dairy ewes. *Small Ruminants Research*. 2011, Vol. 97, 1-3, pp. 139-145.
- TAPONEN S, SALMIKIVI L, SIMOJOKI H, KOSKINEN MT, PYORALA S. 2009.** Real-time polymerase chain reaction-based identification of bacteria in milk samples from bovine clinical mastitis with no growth in conventional culturing. *Journal of Dairy Science*. 2009, Vol. 92, pp. 2610–2617.
- WHIST AC, OSTERAS O, SOLVEROD L. 2007.** Staphylococcus aureus and Streptococcus dysgalactiae in Norwegian herds after introduction of selective dry cow therapy and teat dipping. *Journal of Dairy Research*. Février 2007, 74 (1), pp. 1-8.
- YANG S, LIN S, KELEN GD, QUINN TC, DICK JD, GAYDOS CA, ROTHMAN RE. 2002.** Quantitative multiprobe PCR assay for simultaneous detection and identification to species level of bacterial pathogens. *Journal of Clinical Microbiology*. Sept 2002, pp. 3449-3454.
- ZADOKS RN, TASSI R, MARTIN E, HOLOPAINEN J, McCALLUM S, GIBBONS J, BALLINGALL KT. 2014.** Comparison of bacteriological culture and PCR for detection of

bacteria in ovine milk - Sheep are not small cows. *Journal of Dairy Science*. 2014, Vol. 97, pp. 6326-6333.

Annexe 1 : Apports des différentes rations distribuées lors de la campagne laitière N.

Ration hivernale

- Fin de gestation (septembre à octobre)

	MS/ brebis	UFL	PDIA	PDIN	PDIE	Amidon	UEM	Cell	Ca	P	MAT	MG
Ensilage de blé vesce	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Ration mélangée	2,4	1,99	57	171	166	195	3,06	523	7	4	318	0
(Ens maïs 25%, ens RGI75%, Foin luz 0%)												
Luzerne Deshy 18	0,42	0,29	26	51	44	0	0,34	118	3	1	76	0
Foin RGI	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Foin Luz 2ème coupe	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Fortolis énergie initial	0,55	0,58	107	165	138	44	0,00	44	2	2	220	33
Orge	0,18	0,20	5	14	18	90	0,00	11	0	1	22	4
CMV	0,01								0,7	0,4		0
TOTAL	3,56	3,06	196	402	365	329	3	696	12	8	635	37

- De l'agnelage à début janvier

	MS/ brebis	UFL	PDIA	PDIN	PDIE	Amidon	UEM	Cell	Ca	P	MAT	MG
Ensilage de blé vesce	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Ration mélangée	2,2	1,80	55	168	151	212	2,80	500	6	3	269	0
(Ens maïs 25%, ens RGI75%, Foin luz 0%)												
Luzerne Deshy 18	0,3	0,21	19	37	31	0	0,24	84	2	1	54	0
Foin RGI	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Foin Luz 2ème coupe	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Fortolis énergie initial	0,5	0,53	98	150	125	40	0,00	0	1	2	200	30
Orge	0,18	0,20	5	14	18	90	0,00	11	0	1	22	4
CMV	0,01								0,7	0,4		0
TOTAL	3,19	2,74	177	369	326	342	3	595	10	7	545	34

- De janvier à la mise à l'herbe

	MS/ brebis	UFL	PDIA	PDIN	PDIE	Amidon	UEM	Cell	Ca	P	MAT	MG
Ensilage de RGI	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0,0	0,0	0	0,00
Ration mélangée (Ens maïs 47%, ens RGI23%, Foin luz 30%)	2,2	1,85	60	162	168	365	2,77	549	14	6	297	0
Luzerne Deshy 18	0,2	0,14	12	24	21	0	0,16	56	1	0	36	0
Foin RGI	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Foin Luz	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Fortolis énergie initial	0,3	0,32	59	90	75	24	0,00	0	1	1	120	18
Orge	0,1	0,11	3	8	10	50	0,00	6	0	0	12	2
CMV	0,01								2	1		0
TOTAL	2,81	2,42	134	284	274	439	3	612	18	8	465	20

Ration estivale

	MS/ brebis	UFL	PDIA	PDIN	PDIE	Amidon	UEM	Cell	Ca	P	MAT	MG
Ensilage de blé vesce	1,17	0,82	25	59	76	0	1,59	312	5	4	115	0
Ration mélangée (Ens maïs 47%, ens RGI23%, Foin luz 30%)	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Luzerne Deshy 23	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Foin RGI	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Foin Luz	0	0,00	0	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0
Fortolis énergie initial	0,085	0,09	17	26	21	7	0,00	0	0	0	34	5
Orge	0,27	0,30	8	22	27	135	0,00	17	0	1	33	6
CMV	0,01								2	1		0
TOTAL	1,54	1,21	49	106	125	142	2	329	7	5	182	11

Concentrés de production (brebis hors essai de nutrition)

<i>Kilos/brebis/jour à l'auge</i>	Apports bruts globaux
Orge	0,3
Luzerne déshydratée	0,5
Tourteaux	0,62

Annexe 2 : Rations des différents lots d'essais de nutrition en début de campagne N.

Concentrés de production

- Essai « monotraite »

<i>Kilos bruts globaux/brebis/jour</i>	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4
Orge	0,140	0,140	0,130	0,000
Luzerne déshydratée	0,650	0,650	0,620	0,380
Tourteau du commerce	0,720	0,720	0,550	0,460

- Essai « Evilais »

<i>Kilos bruts globaux/brebis/jour</i>	Lot 5	Lot 6	Lot 7	Lot 8	Lot 9
Orge	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Luzerne déshydratée	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Aliment 1	0,7				
Aliment 2		0,7			
Aliment 3			0,7		
Aliment 4				0,7	
Aliment 5					0,7

Annexe 3 : Contrôle Optitraité réalisé en début de campagne N+2.

Fiche de contrôle OPTITRAITE®

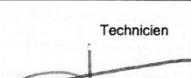
Réf.: OP 213 édition juillet 2009

Maître d'œuvre Chambre d'Agriculture 12 Carrefour de l'Agriculture 12026 RODEZ Cedex 9 05-65-73-77-00	Numéro d'élevage 12208433 Numéro de machine 1 Date du contrôle 28/09/2015 Nom de l'éleveur M LYCEE PROFESSIONNEL AGRICULTURE Adresse ROUTE DE BOURNAC Commune 12400 ST AFFRIQUE Téléphones 0565981029
Contrôle réalisé par PONS FRERES Rue A. Lavoisier 12100 MILLAU	Code entreprise 1207 Technicien Thierry MICHEL 1207MICH Date du contrôle précédent 21/10/2013 Date du contrôle suivant 28/09/2016 Origine du contrôle Abonnement 2
Laiterie SOCIETE Contrôle laitier Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Effectif du troupeau 580 Elevage : Bovin (1), Caprin (2), Ovin (3) 3	

Description de l'installation				Date de mise en service	24/09/2000	Lactoduc principal	
				Date de dernière modification		Diamètre intérieur (mm)	48,5
	Marque	Modèle	Code	Altitude de l'installation	300	Bas (1) Intermédiaire (2) Haut (3)	3
Installation	DELAVAL			Type de l'installation		Bouclé (1) Non bouclé (2)	1
Pompe à vide	DELAVAL	VP 77	DLPV77		Traite arrière 90 °	6	Longueur (m)
Régulateur de vide	DELAVAL	MVR	DLRMVR	Nombre de postes de traite	20	Nb de postes par ramification	10
Pulsateurs	DELAVAL	EP 100 B	DLUE10	Nombre de places en salle de traite	40	Nombre de robinets	
Griffes	DELAVAL	TF 100	DLG100	Nombre de quais en salle de traite	2	Griffes	
Manchons trayeurs	DELAVAL	S 200-S	DLM200			Griffes à fermeture automatique Oui (O) Non (N)	N
Extracteur de lait	DELAVAL	50 L VERRE	DLE50V	Diamètre intérieur des canalisations à air		Pulsation	
Système de fin de traite	DELAVAL	Dépose MMS SG	DLDMSG	Principale (mm)	69	Alternée (1) Simultanée (2)	2
Compteurs à lait				Des pulsateurs (mm)	69	Individuelle (1) Multipostes (2)	1

Bilan du contrôle

Référence	Défauts constatés	Conseils/interventions	A faire	Réalisé
1.1	1.1 - Pompe à vide : courroies : DETENDUES	A RETENDRE		X
1.5	1.5 - Faisceaux trayeurs : manchons trayeurs : CRAQUELES	A REMPLACER		X

	Niveau de vide	Régulation du vide	Réserve réelle	Faisceaux trayeurs	Pulsation	Lactoduc	Signatures	
	S NS	S NS	S NS	S NS	S NS	S NS	Eleveur	Technicien
Avant intervention	x	x	x	x	x	x		
Après intervention	x	x	x	x	x	x		

Fiche de contrôle conçue et éditée par l'Institut de l'Elevage 149 Rue de Bercy 75595 Paris CEDEX 12 - tél : 01 40 04 51 50 ; Reproduction interdite OPTITRAITE® est une marque déposée par le CO.F.I.T. Nous vous conseillons de conserver ce document et de le communiquer à tout technicien intervenant pour un problème lié à la traite.

Mesures et Observations

Réf.: OP 214 édition juillet 2009

Examens Visuels		S NS	S NS	S NS	S NS
1.1 : Pompe à vide		1.3 : Régulateur de vide	1.5 : Faisceaux trayeurs	1.7 : Capacité du lactoduc	
Courroies - poulies - graissage	<input checked="" type="checkbox"/>	Montage - état	<input checked="" type="checkbox"/>	Pente	1,5
1.2 : Système de vide		1.4 : Chambre de réception	1.6 : Lactoduc	Débit maxi du lactoduc	
Robinetts - purgeurs - intercepteur	<input checked="" type="checkbox"/>	Piège sanitaire - pompe à lait	<input checked="" type="checkbox"/>	12	
			Propreté - hauteur	7,3 <input checked="" type="checkbox"/>	

Mesures

Essai de régulation	Début de contrôle		Fin de contrôle	
	Test de pose	Test de chute	Test de pose	Test de chute
• Vide moyen phase 1	p1 37,8	c1 37,5	p1	c1
• Vide minimum phase 2	p2 37,2	c2 36,8	p2	c2
• Vide moyen phase 3	p3 37,7	c3 37,7	p3	c3
• Vide maximum phase 4	p4 38,2	c4 38,3	p4	c4

Niveaux de vide	Poste hors service		Poste en service		Fin de contrôle
	a	b	d normal	h = d - 2kPa	
• Sur l'indicateur de vide	38	38,7	37,9	35,9	
• Au point Vm	b	c	e	i	36
• Au point Vr	c	e	f	j	36,6
• Au point Vp					
• Pression au point Pe			g 1,2	u	36,7

Débits en A1

Régulateur	Début de contrôle		Fin de contrôle	
	en service	hors service	en service	hors service
• Vm : d-2kPa	k 35,9	m 1800		
• Vr : e-2kPa	l 36	n 1820		

Débits de la pompe à vide

• Vitesse de rotation	o 1000	p 1029
• Débit à 50 kPa	1600	q 1870
• Débit au vide f	38,5	r 2400

Débits en A2 et vide en Vp

• Avec le système de vide : au vide f	38,5	s 2320
• Avec le système de vide et de lait : au vide f	38,5	t 2290

Contrôle des faisceaux trayeurs

Numérotation

Fuite au clapet	Admission d'air (L/min)			Débit d'air	Anomalies de Faisceaux trayeurs	
	Total	Fuite	Entrée		Faisceaux trayeurs	Pulsation
	≤ 2	≤ 12	≤ 2			
1	0	6	0	6	280	
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						

Résultats

2 - Niveaux de vide	Conseillé	Observé	S NS	Modifié
2.1 - Erreur de l'indicateur de vide	a - b ≤ 1 kPa	-0,7	<input checked="" type="checkbox"/>	
2.2 - Sensibilité de régulation	b - d ≤ 1 kPa	0,8	<input checked="" type="checkbox"/>	
2.3 - Vide de traite (+/- 2 KPa)	d 37	37,9	<input checked="" type="checkbox"/>	
2.4 - Pression à l'échappement	g ≤ 5 kPa	1,2	<input checked="" type="checkbox"/>	
2.5 - Chute de vide entre Vm et Vr	i - h ≤ 1 kPa	0,1	<input checked="" type="checkbox"/>	
2.6 - Chute de vide entre Vm et Vp	j - h ≤ 3 kPa	0,7	<input checked="" type="checkbox"/>	
2.7 - Chute de vide entre Vm et phase b	d - u ≤ 2 kPa	1,2	<input checked="" type="checkbox"/>	

3 - Caractéristiques de régulation et réserve

3.1 - Sur régulation	en pose	p4 - p1 ≤ 2 kPa	0,4	<input checked="" type="checkbox"/>
	en chute	c4 - c1 ≤ 2 kPa	0,8	<input checked="" type="checkbox"/>
- Sous régulation	en pose	p3 - p2 ≤ 2 kPa	0,5	
	en chute	c3 - c2 ≤ 2 kPa	0,9	
- Chute de vide	en pose	p1 - p3 ≤ 2 kPa	0,1	
	en chute	c1 - c3 ≤ 2 kPa	-0,2	
- Réserve réelle		k ≥ 900 L/min	1800	

3.2 - Bilan de la régulation et de la réserve

3.3 - Perte de régulation	m - k ≤ 180 L/min	0	<input checked="" type="checkbox"/>
3.4 - Fuite du régulateur	n - l ≤ 90 L/min	10	<input checked="" type="checkbox"/>

4.1 - Débit corrigé de la pompe à vide

4.1 - Débit corrigé de la pompe à vide	$\frac{o \cdot g}{p} \geq 1600$ L/min	1817	<input checked="" type="checkbox"/>
4.2 - Fuite de la canalisation à air	r - s ≤ 120 L/min	80	<input checked="" type="checkbox"/>
4.3 - Fuite du lactoduc	s - t ≤ 50 L/min	30	<input checked="" type="checkbox"/>

5 - Nombre de Faisceaux trayeurs avec anomalie de

5.1 - Fuite aux clapets de fermeture	0	0	<input checked="" type="checkbox"/>
5.2 - Admission d'air	0	0	<input checked="" type="checkbox"/>
5.3 - Débit d'air aux tuyaux long à lait	0	0	<input checked="" type="checkbox"/>

6 - Pulsation

6.1 - Nombre de postes avec anomalies	0		<input type="checkbox"/>
6.2 - de fréquence	0		<input type="checkbox"/>
6.3 - de rapport	0		<input type="checkbox"/>
6.4 - de boitement	0		<input type="checkbox"/>
6.5 - de phase b	0		<input type="checkbox"/>
6.6 - de phase d	0		<input type="checkbox"/>
6.7 - Ecart maxi de rapport entre postes %	≤ 5	0	<input checked="" type="checkbox"/>

Réglage de la pulsation

	Avant intervention				Après intervention		
	Conseil	Réglage	Mini	Maxi	Réglage	Mini	Maxi
Fréquence	180	180	180	180			
Rapport	50	51	51	51			
Phase b	≥ 30%	29	29	31			
Phase d	≥ 150ms	105	105	106			

Réf. Institut n 06 08 31 015 - n ISBN 978-2-84148-477-2

TOULOUSE, 2016

NOM : ROBIN

Prénom : CLAIRE

NOM : VALETTE

Prénom : FLORA

TITRE : ANTIBIOTHERAPIE INTRA-MAMMAIRE AU TARISSEMENT : EVALUATION DE L'EFFICACITÉ DU TRAITEMENT SELECTIF (OVINS LAITIERS)

RESUME :

Dans un contexte de réduction nationale de l'utilisation d'antibiotiques en médecine vétérinaire (Ecoantibio2017), l'antibiothérapie intra-mammaire exhaustive au tarissement est de plus en plus controversée. Notre étude, menée sur 268 brebis (536 hémi-mamelles) a pour objectif de démontrer l'efficacité d'un traitement sélectif dans un élevage ovin laitier. Trois lots homogènes ont été formés avec pour chacun une stratégie de traitement différente : toutes les brebis ont été traitées dans le premier lot, seules les brebis présumées infectées dans le deuxième, et seules les hémi-mamelles présumées infectées dans le dernier lot. A partir de données cliniques, cellulaires et bactériologiques, nous avons cherché à évaluer l'efficacité curative et préventive de l'antibiothérapie, l'efficacité préventive de l'antiseptie des trayons et les facteurs de risque associés aux mammites en *peri partum*.

MOTS CLES :

TRAITEMENT INTRA-MAMMAIRE / TARISSEMENT / BREBIS LAITIERE / MAMMITES SUB-CLINIQUES / ANTISEPSIE

TITLE : INTRAMAMMARY ANTIBIOTIC THERAPY AT DRYING-OFF : EFFICACY OF SELECTIVE TREATMENT (DAIRY SHEEP)

ABSTRACT :

In a context of national reduction of antibiotics use in animal health (Ecoantibio2017), blanket antibiotic dry therapy in dairy cattle has become questionable. Our study, conducted on 268 sheep (536 half udders) aims to demonstrate the efficacy of selective treatment in a dairy sheep farming. Three homogeneous groups were formed; each one of them had a different treatment strategy: in the first batch, all the sheep were treated, in the second one, only the presumed infected sheep, and, in the last one, only the half udders were treated. Based on clinical, cellular and bacteriological data, we sought to assess the preventive and curative efficacy of antibiotic therapy, the efficacy of teat dipping and risk factors associated with *peri partum* mastitis.

KEY-WORDS : INTRA-MAMMARY TREATMENT / DRYING-OFF / DAIRY EWE / SUBCLINICAL MASTITIS / EFFICACY / TEAT DIPPING