

Université de Montréal

**Évaluation de l'efficacité d'un traitement antibiotique
intra-mammaire pré-vêlage de chlorhydrate de
pirlimycine chez les taures laitières primipares**

par

Jean-Philippe Roy

Département de sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire



Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option sciences cliniques

Décembre 2004



© Jean-Philippe Roy, 2004

SF

607

U54

2005

V.008

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Évaluation de l'efficacité d'un traitement antibiotique intra-mammaire pré-vêlage de chlorhydrate de pirlimycine chez les taures laitières primipares

présenté par :

Jean-Philippe Roy

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Denise Bélanger, présidente-rapporteuse

Émile Bouchard, directeur de recherche

Luc DesCôteaux, codirecteur

Serge Messier, codirecteur

Daniel Scholl, membre du jury

Résumé

Un total de 428 taures Holstein ont été assignées de façon systématique au groupe traité et témoin en alternance selon la date prévue de vêlage afin d'évaluer l'efficacité d'un traitement antibiotique 6 à 12 jours pré-vêlage de pirlimycine afin de réduire la proportion d'infection intra-mammaire (IIM) en début de lactation et d'augmenter la production laitière. Lors de la visite pré-vêlage, seules les taures formant le groupe traité (n = 219) recevaient une infusion intra-mammaire de pirlimycine dans les 4 quartiers. Soixante-neuf point un pour-cent (69.1 %) des taures et 32.6 % des quartiers étaient infectés en période pré-vêlage. La proportion de taures infectées passait à 44.6 % pour le groupe témoin et à 31.3 % pour le groupe traité en période post-vêlage (différence significative; $P = 0.009$). La proportion de taures infectées par *Staphylococcus aureus* était de 10.3 % en période pré-vêlage. Suite au vêlage, la proportion de *S. aureus* était significativement plus faible chez les taures traitées (5.6 %) que chez les taures témoins (10.4 %) ($P = 0.04$). Lorsque toutes les bactéries à Gram positif étaient regroupées, le traitement avait un effet significatif sur la proportion de nouvelles IIM présentes au vêlage ($P = 0.007$). Également, le traitement avait un effet significatif sur la proportion de guérison des bactéries à Gram positif ($P = 0.03$) lorsqu'on considérait l'intervalle entre la date du traitement pré-vêlage et la date du vêlage. Ce même intervalle influençait significativement la production laitière estimée à 305 jours en lait ($P = 0.008$). Les taures infusées plus d'une semaine avant la date du vêlage ont produit 365 kg de lait de plus que les taures du groupe témoin. À l'opposé, les taures infusées moins d'une semaine avant la date du vêlage ont produit 250 kg de lait de moins que les taures du groupe témoin. Le traitement antibiotique intra-mammaire à base de pirlimycine s'est avéré efficace pour réduire la proportion des IIM en début de lactation et a augmenté la production laitière des taures traitées plus d'une semaine avant le vêlage.

Mots-clés : taure, mammite, traitement antibiotique, période pré-vêlage, infection intra-mammaire, pirlimycine

Abstract

A total of 428 heifers were systematically allocated to treatment and control groups to determine whether prepartum antibiotic treatment of pirlimycin was effective for reducing the proportion of intramammary infections (IMI) during early lactation and for improving milk production. Duplicate milk samples from each quarter were collected from all heifers between 6 to 12 days before the expected calving dates and between 2 and 8 days after calving. On the prepartum visit, heifers from the treatment group (n = 219) received an infusion of pirlimycin in all 4 quarters and no infusions were made for the control group (n = 209). Presence of IMI was detected in 69.1 % of heifers and 32.6 % of quarters during the prepartum period and was similar in both groups. After calving, presence of IMI was significantly lower in treated heifers (31.3 %) than in control heifers (44.6 %) (P = 0.009). *Staphylococcus aureus* was isolated from 10.3 % of heifers and from 3.2 % of quarters prepartum. After calving, presence of *S. aureus* was significantly lower in treated heifers (5.6 %) than in control heifers (10.4 %) (P = 0.04). When all Gram positive pathogens were grouped, antibiotic treatment had a significant effect on prevention of new IMI at calving (P = 0.007) relative to no treatment. Also, antibiotic treatment had a significant effect on cure rate of Gram positive pathogens (P = 0.03) when the interval between time of treatment and calving was considered. Also, this interval significantly modified effect of treatment (P = 0.008) on milk production. An increase of 365 kg of milk was seen when antibiotic treatment was done more than 1 week before calving. A negative effect on production was observed when treatment was administered less than one week before calving. Prepartum intramammary antibiotic infusion of pirlimycin in heifers was an effective procedure for reducing proportion of IMI at parturition and for increasing milk production when treated more than 1 week precalving.

Keywords : heifer, mastitis, antibiotic therapy, prepartum, intramammary infection, pirlimycin

Table des matières

LISTE DES TABLEAUX.....	VIII
LISTE DES FIGURES	XI
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XII
REMERCIEMENTS.....	XIV
INTRODUCTION	1
RECENSION DE LA LITTÉRATURE	3
1 La glande mammaire normale.....	3
1.1 Les composants du lait et du colostrum.....	3
1.2 Le pH du lait et du colostrum	4
1.3 L'intégrité de la glande mammaire.....	4
1.4 Les cellules somatiques.....	4
1.5 La pathogénie suite à une infection intra-mammaire	5
2 Agents pathogènes causant la mammite chez les taures	7
3 Prévalence des infections intra-mammaires en période pré-vêlage	7
3.1 Apparence des sécrétions mammaires en période pré-vêlage.....	7
3.2 Prévalence des infections intra-mammaires en période pré-vêlage.....	8
4 Prévalence des infections intra-mammaires en période post-vêlage	12
5 Prévalence et rôles des staphylocoques coagulase-négative chez les taures	15
5.1 Prévalence des staphylocoques coagulase-négative chez les taures	15
5.2 Importance clinique des infections intra-mammaires causées par les staphylocoques coagulase-négative.....	16
6 Guérison spontanée et nouvelles infections intra-mammaires.....	17
6.1 Guérison des infections intra-mammaires	17
6.2 Proportion de nouvelles infections intra-mammaires.....	19
6.3 Persistance des infections intra-mammaires durant la lactation	20
7 Pertes associées à la mammite chez les primipares	20
7.1 Pertes de production.....	21
7.2 Pertes associées au comptage des cellules somatiques	22

7.3	<i>Autres pertes associées</i>	23
8	Facteurs de risque d'infections intra-mammaires chez les taures.....	24
8.1	<i>Facteurs de risque liés à l'animal</i>	24
8.2	<i>Facteurs de risque liés au troupeau</i>	25
9	Prévention des infections intra-mammaires chez les taures laitières primipares.....	27
9.1	<i>Bains de trayon pré-vêlage</i>	27
9.2	<i>Vaccination des taures contre Staphylococcus aureus</i>	28
9.3	<i>Alimentation des veaux</i>	29
9.4	<i>Logement des veaux et des génisses</i>	30
9.5	<i>Contrôle de l'environnement</i>	30
10	Contrôle des infections intra-mammaires chez les taures laitières primipares par l'usage d'antibiotiques intra-mammaires.....	31
10.1	<i>Susceptibilité in vitro aux antibiotiques des bactéries provenant des glandes mammaires de taures</i>	31
10.2	<i>Traitement antibiotique intra-mammaire</i>	32
10.2.1	Traitement antibiotique intra-mammaire avec un produit longue action.....	32
10.2.2	Traitement antibiotique intra-mammaire avec un produit courte action.....	34
10.3	<i>Effet sur la production laitière</i>	39
10.4	<i>Effet sur le comptage de cellules somatiques</i>	40
10.5	<i>Résidus dans le lait</i>	41
10.6	<i>Coûts associés au traitement</i>	42
	OBJECTIFS DE L'ÉTUDE	43
	MÉTHODOLOGIE.....	44
	Sélection des sujets et des troupeaux	44
	Groupe de traitement.....	45
	Récolte des échantillons et traitement.....	45
	Analyse des échantillons.....	46
	Définitions.....	49

Analyses statistiques	50
ARTICLE.....	54
Abstract	55
Introduction.....	56
Materials and methods	57
Results and discussion	62
Conclusion	76
Acknowledgements.....	76
References.....	77
DISCUSSION GÉNÉRALE.....	81
Statistiques descriptives générales.....	81
Proportion des infections intra-mammaires en période pré-vêlage	81
Proportion des infections intra-mammaires en période post-vêlage.....	82
Guérison et nouvelles infections intra-mammaires.....	85
Effet du traitement sur le comptage de cellules somatiques	87
Effet du traitement sur la production laitière	88
Retour sur le protocole.....	90
CONCLUSION.....	92
BIBLIOGRAPHIE.....	93
ANNEXE 1	100

Liste des tableaux

Tableau I. Résumé des études portant sur les proportions de quartiers présentant des infections intra-mammaires (IIM) en période pré-partum chez les taures laitières.	11
Tableau II. Proportion de taures infectées par des bactéries présentes dans un échantillon de lait composite dans le premier mois post-partum provenant de 21 troupeaux laitiers suivis par le service de médecine de population de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.	12
Tableau III. Résumé des études portant sur les proportions de quartiers présentant des infections intra-mammaires (IIM) en période post-partum chez les taures laitières.	14
Tableau IV. Proportion de quartiers infectés avec des bactéries staphylocoques coagulase négative avant et après le vêlage chez des primipares (n = 36) et des pluripares (n = 77) (tiré de Matthews et coll., 1992).	17
Tableau V. Analyse histologique du parenchyme mammaire de sept taures nullipares saines ou infectées par un staphylocoque coagulase négative (SCN) ou <i>Staphylococcus aureus</i> (AB) (tiré de Nickerson et coll., 1995).	21
Tableau VI. Proportion d'infections et comptage de cellules somatiques (CCS) pour un groupe de taures traitées avant le vêlage (n = 35) avec un produit intra-mammaire à base de pénicilline et dihydrostreptomycine et un groupe témoin (n = 38) (tiré de Trinidad et coll., 1990b).	33
Tableau VII. Effet d'une thérapie antibiotique intra-mammaire pré-vêlage de pénicilline-novobiocine (n = 25) ou de céphapirine (n = 17) administrée à des taures laitières 12 à 14 semaines précédant le vêlage (tiré de Owens et Ray 1996).	34

Tableau VIII. Proportions par quartier d'infections intra-mammaires (IIM) chez des taures laitières primipares durant la période péri-partum suite à un traitement antibiotique intra-mammaire pré-vêlage de cloxacilline (n = 38) et de céphapirine (n = 36) (tiré de Oliver et coll., 1992).35

Tableau IX. Proportions par quartier d'infections intra-mammaires de taures laitières en période pré-vêlage, à 3 et 30 jours en lait (JEL) suite à un traitement antibiotique intra-mammaire de céphapirine 14 jours précédant la date prévue de vêlage (tiré de Oliver et coll., 1997a).36

ARTICLE

Table 1. Mean and range values () for the 305 days milk production estimate (P305), somatic cell counts (CCS) and linear scores (L2S) for the first 3 DHI tests and for the principal time intervals between procedures.70

Table 2. Proportion of intramammary infections per heifer and per quarter for the two sampling periods (precalving (PRE) and post-calving (POST)).71

Table 3. Proportion of intramammary infections per quarter for the logistic regression model for the two sampling periods (precalving (PRE) and post-calving (POST)).72

Table 4. Proportion of quarters cured (%) for control and treatment groups based on the logistic regression model.73

Table 5. Proportion of new intramammary infections (%) for control and treatment groups based on the logistic regression model.74

Table 6. Effect of treatment (TX), DHI test number, interval between precalving visit and calving (PREI) and their interaction between TX and PREI (TX*PREI) on the 305 days milk production estimates (P305) and linear scores (L2S) (ls mean).75

Liste des figures

Figure 1. Procédures diagnostiques utilisées au Laboratoire de bactériologie de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal pour la culture bactériologique du lait.	48
--	----

Liste des sigles et abréviations

BHI :	Brain heart infusion
c :	Cellule(s)
CALV-Test :	Intervalle between calving and DHI test
cfu :	Colony forming unit
CCS :	Comptage de cellules somatiques
c/mL :	Cellules par millilitre
CI :	Confidence interval
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
CMT :	California mastitis test
CNS :	Coagulase negative staphylococci
CO ₂ :	Dioxyde de carbone
D :	Day
DIM :	Days in milk
DHI :	Dairy herd improvement
IC :	Intervalle de confiance
IIM :	Infection intra-mammaire
IMI :	Intramammary infection
IPRÉ :	Intervalle en jours entre la date d'échantillonnage pré-vêlage et la date du vêlage
IPOST :	Intervalle en jours entre la date du vêlage et la date d'échantillonnage post-vêlage
J :	Jour
JEL :	Jours en lait
kg :	Kilogramme
L :	Litre
L2S :	Score linéaire ou linear score
mg :	Milligramme
mL :	Millilitre

n :	Nombre
NIIM :	Nouvelle infection intra-mammaire
NIMI :	New intramammary infection
OR :	Ratio de cotes, odds ratio
PATLQ :	Programme d'amélioration des troupeaux laitiers du Québec
POST :	Période d'échantillonnage post-vêlage
POSTI :	Interval in days between calving and post-calving sampling
PRE :	Precalving period
PRÉ :	Période d'échantillonnage pré-vêlage
PREI :	Interval in days between precalving sampling and calving
P305 :	Production laitière estimée à 305 jours en lait
SCC :	Somatic cell count
SCN :	Staphylocoque coagulase négatif
TSA :	Trypticase soy agar
TSI :	Triple sugar iron
TX:	Traitement
TX*IPRÉ :	Interaction entre le traitement et l'intervalle entre la date d'échantillonnage pré-vêlage et la date du vêlage
TX*periode :	Interaction entre le traitement et la période d'échantillonnage (pré-vêlage ou post-vêlage)
TX*PREI :	Interaction between treatment and the interval between precalving sampling and calving
TX*sampling :	Interaction between treatment and sampling period (precalving or post-calving)
µL :	Microlitre

Remerciements

Je tiens à remercier pour leurs judicieux conseils les membres de mon comité de supervision : Dr Émile Bouchard, directeur, Dr Luc DesCôteaux et Dr Serge Messier, co-directeurs.

Je tiens également à remercier Dr Denis Du Tremblay pour son aide précieuse dans plusieurs aspects de ma maîtrise ainsi que Guy Beauchamp pour son aide dans l'analyse statistique.

Un remerciement sincère à tous mes collègues de travail de la clinique ambulatoire de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal qui m'ont aidé dans la collecte de données ainsi qu'en me libérant de mon travail clinique afin de me consacrer à ma maîtrise. Je tiens à remercier plus particulièrement pour leur appui constant le Dr André Cécyre et la Dre Cécile Ferrouillet.

Je tiens à remercier également le personnel de soutien technique de la clinique ambulatoire pour l'aide apportée dans la récolte et l'entrée des données de ce projet (Isabelle Dutil, François Dubois, Francine Marcoux, Diane Daigneault et Mélissa Leclerc).

Merci également aux 23 producteurs qui ont accepté généreusement de participer à cette étude.

Je remercie également mes amis et ma famille qui m'ont encouragé et soutenu tout au long du processus.

Finalement, je remercie la compagnie Pfizer santé animale et le Fonds du Centenaire de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal qui ont généreusement subventionné cette étude.

Introduction

Avant l'étude de Oliver et Mitchell (1983) qui rapporta une prévalence élevée d'infection intra-mammaire (IIM) en période pré-vêlage ainsi qu'en début de lactation chez les taures, la mammite n'était pas un sujet bien connu chez les taures. Depuis, plusieurs études ont rapporté des prévalences d'IIM similaires pouvant même atteindre jusqu'à 97 % de taures infectées au vêlage (Pankey et coll., 1991; Fox et coll., 1995; Owens et coll., 2001). Les prévalences d'IIM chez les taures non inséminées ou gravides sont aussi élevées que celles retrouvées au vêlage indiquant que les infections se produisent plusieurs semaines ou mois précédant le vêlage (Trinidad et coll., 1990a; Oliver et coll., 1992; Fox et coll., 1995). Toutes ces études indiquent que les IIM chez les taures durant la période péri-partum sont fréquentes.

Ces IIM surviennent à une période critique du développement mammaire chez les taures ce qui entraîne une diminution de la quantité de tissu glandulaire au détriment potentiel des lactations subséquentes (Nickerson et coll., 1995). Les taures infectées produisent moins de lait durant leur première lactation (Boddie et coll., 1987; Myllys et Rautala, 1995), le CCS de ces taures est également plus élevé (Boddie et coll., 1987; Trinidad et coll., 1990a; Hallberg et coll., 1995) et plusieurs IIM peuvent persister pour une longue période (Boddie et coll., 1987; Daniel et coll., 1987; Oliver et coll., 1997b).

Quelques méthodes de contrôle et de prévention des IIM ont été envisagées. Le bain de trayon en période pré-vêlage (Schultze, 1985; Matthews et coll., 1988; Edinger et coll., 2000) et la vaccination des taures contre *Staphylococcus aureus* (Nordhaug et coll., 1994; Tenhagen et coll., 2001) sont deux approches n'ayant pas donné de résultats concluants. L'approche la plus prometteuse est l'utilisation d'antibiotiques intra-mammaires à courte ou longue action en période pré-vêlage. Les proportions de guérison obtenus lors d'un traitement antibiotique intra-mammaire sont significativement plus élevés que celui des taures non traitées et ce, même pour *S. aureus* (Oliver et coll., 1992; Owens et Ray, 1996; Oliver et coll., 1997a; Owens et coll., 2001; Oliver et coll., 2004). Le traitement antibiotique pré-vêlage augmente la production de lait (Trinidad et coll., 1990b; Owens et

coll., 1991; Oliver et coll., 2003) et diminue le comptage de cellules somatiques (CCS) chez les taures traitées (Trinidad et coll., 1990b; Oliver et coll., 2004).

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité d'un traitement antibiotique intra-mammaire pré-vêlage à base de pirlimycine sur la diminution de la proportion des taures présentant une IIM en début de lactation ainsi que l'effet du traitement sur la production laitière et le CCS durant la première lactation.

Recension de la littérature

1 La glande mammaire normale

1.1 Les composants du lait et du colostrum

Le lait est une solution hydrique complexe qui contient plus d'une centaine de composés chimiques différents. Les principaux constituants du lait sont le lactose, les protéines (caséines, alpha-lactalbumine, bêta-globuline, albumine sérique, immunoglobulines G et A), les lipides, les lactocytes, les leucocytes (neutrophiles, éosinophiles, macrophages et lymphocytes), les ions bivalents (calcium, phosphore et magnésium) et monovalents (sodium, potassium et chlore) (Mephram, 1987).

Le lactose est synthétisé à partir du glucose à l'intérieur de l'appareil de Golgi. Cette molécule représente plus de la moitié des molécules retrouvées dans le lait. L'appareil de Golgi est perméable au glucose mais imperméable au lactose (Leong et coll., 1990). Cette caractéristique physiologique est à la base du mécanisme physicochimique nécessaire à la création du gradient osmotique nécessaire à la sécrétion du volume de lait (Mephram, 1987; Peaker, 1978). Les ions K^+ , Na^+ et Cl^- réalisent avec le lactose, l'équilibre de pression osmotique du lait dans la mamelle vis à vis de la pression sanguine. Ils subissent des variations importantes lors de mammite (Akers, 2002).

Les principales protéines du lait (caséines, alpha-lactalbumine et bêta-globuline) sont assemblées à partir des acides aminés obtenus du sérum (Mephram, 1983). Elles sont synthétisées sur les ribosomes du réticulum endoplasmique rugueux et sont déplacées vers l'appareil de Golgi. La formation des micelles de caséine (ajout de phosphore, calcium, magnésium et citrate) se fait aussi dans l'appareil de Golgi. Ces dernières sont transférées dans l'alvéole de la glande mammaire avec le lactose, l'eau et les électrolytes monovalents (sodium, potassium et chlore). Les caséines représentent de 78 à 80 % des protéines du lait. Elles sont constituées d'environ 200 acides aminés et se différencient en alpha S1 (38 %),

alpha S2 (10 %), beta caséine (35 %), kappa caséine (10 %) et gamma caséine (7 %) (Mephram, 1983).

1.2 Le pH du lait et du colostrum

Le pH du lait de vache mesuré à 20°C est en moyenne de 6.6. Un lait mammitéux est basique (pH > 7) et le colostrum a un pH voisin de 6.0 (Akers, 2002).

1.3 L'intégrité de la glande mammaire

Chez la vache, il est reconnu que la quantité et la différenciation des cellules somatiques dans le lait permettent de juger de l'intégrité de la glande mammaire. Les caractéristiques cellulaires des sécrétions mammaires obtenues avant (phase colostrale) et après (phase de tarissement) la période de la lactation permettent de mieux saisir la signification biologique des cellules somatiques du lait (Akers, 2002).

En fin de gestation les lactocytes sont déjà bien développés, mais l'épithélium n'est pas encore étanche. Les composants du sérum (immunoglobulines, albumine, leucocytes) passent librement dans le compartiment alvéolaire et les composants synthétisés par les lactocytes (lactose, alpha-lactalbumine et bêta-globuline) peuvent se retrouver dans le sérum (Akers, 2002).

1.4 Les cellules somatiques

Les sécrétions des glandes mammaires saines contiennent beaucoup de cellules somatiques. Les comptages les plus élevés sont observés dans les sécrétions mammaires prélevées moins de 24 heures après la parturition et après le tarissement. Les cellules somatiques retrouvées dans le lait sont les lactocytes et les leucocytes représentés par les cellules polymorphonucléaires (neutrophiles et éosinophiles), les macrophages et les lymphocytes (Concha, 1986; Miller et coll., 1991; Paape et coll., 1963). Les leucocytes sont transférés dans le lait à partir du sérum par les passages paracellulaires. Le lait de

vache contient peu de lactocytes (< 10 %). Chez la vache, les lymphocytes (25 - 70 % des cellules) et les macrophages (25 - 50 %) sont les populations dominantes (Capuco et coll., 1986; Concha, 1986; Rivas et coll., 2001).

L'évaluation des cellules somatiques se fait principalement de deux façons, soit le comptage électronique ou par le test de dépistage californien de la mammité (CMT) (Smith, 1996).

Le nombre de cellules somatiques retrouvées dans les sécrétions des glandes mammaires saines en période de développement (gestation), pendant la phase colostrale et en période de tarissement est le reflet de la perméabilité et de la désorganisation de l'épithélium sécrétoire. Durant ces stades, on retrouve entre 1 et 10×10^6 c/mL dans les sécrétions mammaires des vaches (Andrew, 2001; Jensen et Eberhart, 1981; McDonald et Anderson, 1981). Dans toutes ces études, la santé des glandes mammaires était estimée par l'absence de signes cliniques et de croissance bactérienne des ensemencements de lait sur des géloses au sang. Ces études montrent qu'un grand nombre de cellules somatiques dans le lait indique un épithélium non-étanche et pas nécessairement une infection.

1.5 La pathogénie suite à une infection intra-mammaire

Suite à l'introduction d'un micro-organisme au-delà du sphincter du trayon, la sévérité de la réaction inflammatoire variera selon la virulence propre de la bactérie; c'est-à-dire sa facilité pour coloniser et persister dans les sécrétions lactées ainsi que selon le type, l'amplitude et la durée de la réaction de l'hôte face à cet agent infectieux. La multiplication des bactéries dans les alvéoles de la glande mammaire altère l'épithélium sécrétoire de telle manière que les jonctions entre les lactocytes sont plus lâches, ce qui donne, en quelque sorte, une fonction similaire à celle décrite pour la phase colostrale. La réponse inflammatoire entraînera une variété plus ou moins large de signes cliniques locaux ainsi que possiblement systémiques pouvant même entraîner la mort de l'animal affecté (Smith, 1996).

On peut classer la mammite comme étant clinique ou subclinique. La mammite clinique est détectable macroscopiquement et peut être aiguë ou chronique selon la durée des signes observés. Elle peut être classée en trois catégories selon la sévérité. La mammite clinique bénigne correspond à un changement d'apparence des sécrétions (flocons, grumeaux, fibrine, sérosité). La mammite clinique modérée correspond à une inflammation (douleur, rougeur, chaleur, oedème) plus ou moins importante du quartier en plus du changement d'apparence des sécrétions. Finalement, le troisième stade qualifié de mammite clinique aiguë ou toxique correspond à une présence de signes systémiques comme l'hyperthermie, l'anorexie, le décubitus, une légère diarrhée ou la déshydratation. Une mammite gangréneuse souvent mortelle est parfois observée à ce stade (Smith, 1996 ; Erskine, 2004).

La mammite subclinique est présente lorsqu'il y a infection de la glande mammaire avec augmentation des cellules somatiques mais le lait conserve une apparence normale et il n'y a pas de signe visible d'inflammation du quartier affecté (Smith, 1996). On peut détecter la mammite subclinique par des tests de mesures de l'inflammation comme le test de dépistage californien de la mammite (CMT), la conductivité du lait ou le comptage de cellules somatiques (CCS). Ce type de mammite est souvent associé à une infection persistante du quartier pouvant entraîner une fibrose de celui-ci et une diminution de production associée (Smith, 1996).

L'infection expérimentale des glandes mammaires en production avec des bactéries se traduit par une augmentation importante du comptage cellulaire des sécrétions mammaires. On observe des comptages similaires et même supérieurs à ceux observés dans les sécrétions mammaires des glandes saines pendant la phase colostrale et la phase de tarissement (Rivas et coll., 2001). Chez la vache (Rivas et coll., 2001), les cellules somatiques retrouvées dans les sécrétions mammaires des glandes infectées sont principalement des polymorphonucléaires neutrophiles et des macrophages. L'augmentation des cellules somatiques du lait est presque toujours expliquée par une augmentation des leucocytes, et par conséquent, est une bonne indication de l'infection de la glande mammaire.

2 Agents pathogènes causant la mammite chez les taures

Chez la vache laitière adulte, les principales bactéries responsables des mammites contagieuses sont *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* et *Mycoplasma* spp. D'autres bactéries sont considérées comme des pathogènes opportunistes tels que *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Streptococcus uberis* et *Streptococcus dysgalactiae* (Smith, 1996).

Les mêmes bactéries se retrouvent chez les taures en période pré-vêlage exception faite de *S. agalactiae* qui est un pathogène stricte de la glande mammaire des vaches infectées. En effet, dans l'étude de Waage et coll. (2001), 46.2 % des cas de mammites cliniques chez les taures dans les deux premières semaines suivant le vêlage étaient causées par *S. aureus*, 18.7 % par *S. dysgalactiae*, 12.5 % par les staphylocoques coagulase-négative (SCN), 5.7 % par les coliformes et 3.3 % par *S. uberis*. Lors de mammites cliniques, 80 % des cas étaient identifiés dans les 4 premiers jours de la lactation. Dans l'étude suédoise de Jonsson et coll. (1991), 34.4 % des cas de mammite clinique des taures en période pré-vêlage ou dans les deux premières semaines suivant le vêlage étaient causés par *S. dysgalactiae*, 19.5 % des IIM par *S. uberis*, 17.1 % par *S. aureus*, 9.5 % par un SCN et 14.9 % par *E. coli*. Les mêmes bactéries sont retrouvées dans les deux études mais à des prévalences différentes.

3 Prévalence des infections intra-mammaires en période pré-vêlage

3.1 Apparence des sécrétions mammaires en période pré-vêlage

Owens et coll. (2001) ont classé les différentes apparences des sécrétions lactées pré-vêlage de la façon suivante : apparence claire, apparence aqueuse, apparence laiteuse et apparence floconneuse constituaient une première catégorie. Les sécrétions d'apparence mielleuse et de type colostrum formaient les deux dernières catégories. L'apparence et la

consistance des sécrétions étaient associées à la présence d'IIM. Les quartiers avec des sécrétions d'apparence claire (31 %), d'apparence laiteuse (42.5 %), ou d'apparence floconneuse (52.6 %) étaient plus souvent infectées que les sécrétions d'apparence mielleuse (8.3 %) ou de type colostrum (11.7 %).

Une classification semblable a été effectuée par Hallberg et coll. (1995) qui ont regroupé en catégorie les sécrétions pré-vêlage et post-vêlage. Les sécrétions pré-vêlage étaient classées selon leur viscosité : sécrétions avec viscosité faible (apparence claire et aqueuse, apparence de sérum, apparence laiteuse) ou sécrétions avec viscosité élevée (apparence mielleuse et apparence de colostrum). Les 2 catégories des sécrétions post-vêlage étaient : sécrétion normale (apparence de colostrum, apparence laiteuse) ou anormale (apparence claire et aqueuse, apparence de sérum, apparence mielleuse). Quarante-et-un pour-cent (81 %) des quartiers infectés pré-vêlage présentaient des sécrétions avec une viscosité faible alors que 75 % des quartiers sains pré-vêlage avaient des sécrétions avec une viscosité élevée. Les taures échantillonnées avant l'insémination ou lors du premier trimestre de gestation avaient une viscosité des sécrétions mammaires plus basse (73.3 %) par rapport aux deux autres trimestres de gestation (21.4 % et 25.4 %). Vingt-trois pour-cent (23 %) des quartiers infectés post-vêlage avaient une apparence anormale ce qui rend cette classification peu discriminante en période post-vêlage.

De plus, une relation entre l'apparence des sécrétions et le CCS a été établie par Fox et coll. (1995). En effet, les sécrétions ayant un plus haut CCS sont habituellement plus séreuse.

Sur la base de ces données, la présence d'une IIM peut être fortement suspectée lorsque les sécrétions lactées des taures en période pré-vêlage ne sont pas de viscosité élevée comme dans le cas d'apparence mielleuse ou de colostrum.

3.2 Prévalence des infections intra-mammaires en période pré-vêlage

La prévalence relativement élevée d'IIM en période post-partum chez les taures (voir section 4) a incité les chercheurs à tenter d'identifier la période où les taures s'infectent et les facteurs prédisposants. Le Tableau I résume ces études.

Selon la littérature, la prévalence d'IIM en période pré-vêlage varie de 24 % à 75 % des quartiers. Plusieurs raisons expliquent cette grande variation entre les diverses études. Premièrement, la définition d'infection varie grandement d'une étude à l'autre. En effet, certaines études ne décrivent pas du tout les critères utilisés pour définir l'infection (Nickerson et coll., 1995 ; Boddie et coll., 1987 ; Myllys, 1995 ; Bray et coll., 1989 ; Owens et coll., 1991 et Oliver et coll., 2003). D'autres, utilisent les normes du National Mastitis Council (NMC) plus ou moins modifiées (Fox et coll., 1995 ; Hallberg et coll., 1995 ; Harmon et Langlois, 1989). Finalement, plusieurs utilisent des définitions très larges comme : 1) même bactérie présente dans deux échantillons prélevés à un intervalle défini (Oliver et coll., 1992 ; Matthews et coll., 1992), 2) plus de 500 cfu/mL d'un pathogène quelconque (Owens et Ray, 1996 ; Owens et coll., 2001 ; Pankey et coll., 1991) ou 3) plus de 5 cfu/mL (Trinidad et coll., 1990a). Deuxièmement, la région géographique et la saison peuvent influencer les prévalences (Fox et coll., 1995). Finalement, certaines études n'impliquent qu'un nombre restreint de troupeau, parfois même un seul, ce qui peut affecter la prévalence observée d'IIM puisque le troupeau influence significativement ces prévalences (Fox et coll., 1995).

La prévalence de SCN varie quant à elle de 20 à 50 % des quartiers et la prévalence de *S. aureus* de 1 % à 15 %. Les bactéries SCN demeurent les bactéries les plus fréquemment retrouvées dans toutes les études.

Ces prévalences sont semblables à celles retrouvées durant la période post-partum ce qui implique que la plupart des IIM présentes au vêlage sont retrouvées avant le vêlage et parfois même, depuis plusieurs mois. Ce qui suggère que les nouvelles IIM en fin de gestation sont peu importantes en terme de nombre et sont possiblement surtout des infections impliquant des bactéries à Gram négatif.

L'accent sur la santé du pis devrait être mis sur les génisses en plus bas âge et tout au long de leur élevage plutôt que seulement lors de leur préparation au vêlage. Les médecins vétérinaires devraient se méfier des taures dans un programme de contrôle et de prévention de la mammite puisqu'elles peuvent être responsables d'environ 33 % des nouvelles IIM dans un troupeau bien contrôlé avec un CCS inférieur à 200 000 c/mL (Nickerson et Boddie, 1992). De même, Roberson et coll. (1994) indiquent que les taures sont responsables de 27 % de toutes les nouvelles IIM causées par *S. aureus* au vêlage dans une étude portant sur 18 troupeaux dans l'état de Washington.

Tableau I. Résumé des études portant sur les proportions de quartiers présentant des infections intra-mammaires (IIM) en période pré-partum chez les taures laitières.

Stade pré-partum	Lieu	Taure (n)	Quartier (n)	IIM	Proportion (%)				Référence
					SCN ²	AB ³	Env. ⁴	Autres	
IA ¹	Louisiane	97	370	74.6	52.3	14.9	2.7	4.5	Trinidad et coll. (1990b)
IA	Vermont	382		24.0	21	0.2	3.6		Pankey et coll. (1991)
IA	Californie	1583	2435	34.4	27.1	2.9	1.5	2.9	Fox et coll. (1995)
	Vermont								
	Washington								
	Louisiane								
-12 à -14 semaines	Louisiane	42	168	58.3	31.5	14.3	11.9		Owens et Ray (1996)
-21 jours	Floride	265		32.1	23.2	5.4	3.8		Bray et coll. (1989)
-14 jours	Kentucky	36	144		38.9	6.9			Matthews et coll. (1992)
-14 jours	Tennessee	82	314	72.3	55.1	3.2	14.0		Oliver et coll. (1997a)
-7 jours	Tennessee	115	460	60.7	52.8	1.7	4.3	1.7	Oliver et coll. (1992)
-14 jours et -7 jours	Massachusetts	32	252	29.0	22.2	1.2	9.6		Oliver et Mitchell (1983)

¹ Au moment de l'insémination artificielle

² Staphylocoque coagulase-négative

³ *Staphylococcus aureus*

⁴ Pathogènes environnementaux (coliformes et streptocoques non-agalactiae)

4 Prévalence des infections intra-mammaires en période post-vêlage

Afin d'évaluer la problématique dans les troupeaux de la région de St-Hyacinthe, une compilation a été effectuée des cultures de lait prélevé dans le premier mois de la lactation de 383 taures. Ces taures provenaient de 21 troupeaux laitiers suivis par le service de médecine de population de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal et ce, à l'aide du programme DSA, entre les mois de septembre 2000 et septembre 2001 (Tableau II).

Tableau II. Proportion de taures infectées par des bactéries présentes dans un échantillon de lait composite dans le premier mois post-partum provenant de 21 troupeaux laitiers suivis par le service de médecine de population de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

Type de bactérie	Proportion (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0
Autres agents pathogènes majeurs ¹	5
Agents pathogènes mineurs en culture pure et en grande quantité ²	3
Agents pathogènes mineurs en culture mixte ou en faible quantité ³	72
Culture négative	13

¹ Coliformes, autres streptocoques (*dysgalactiae*, *uberis*, *bovis*), levures et *Pasteurella* spp.

² Principalement staphylocoque coagulase négative

³ Staphylocoque coagulase-négative, *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Aerococcus* et *Proteus*.

On a noté la présence de bactéries dans 87 % des cultures de lait des taures dont 15 % sont causées par des agents pathogènes majeurs ou un agent pathogène mineur en culture pure et en grande quantité. La problématique est donc bien réelle dans les troupeaux suivis

par la clinique ambulatoire à la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

Ces résultats sont comparables à ceux d'autres études réalisées au cours des 15 dernières années (Tableau III). Selon ces études, la prévalence d'IIM au vêlage varie de 18 % à 97 % mais se situe le plus souvent entre 35 % et 50 %. Les mêmes raisons qu'en période pré-vêlage pour expliquer la très grande variation entre les études s'appliquent également ici (voir section 3). La prévalence de SCN varie de 15 % à 54 %. Les SCN sont les bactéries les plus souvent identifiées dans toutes les études. Leur rôle pathogène controversé sera abordé dans la section suivante (Section 5). Finalement, les bactéries dites environnementales sont présentes dans 3 à 12 % des échantillons.

La prévalence d'infection à la bactérie *S. aureus* se situe entre 5 et 8 % avec des écarts de 1 à 16 %. Cette prévalence indique que les taures constituent une proportion des nouvelles infections à *S. aureus* dans un troupeau, et une source d'infection dans le troupeau. Roberson et coll. (1998) ont tenté d'identifier la source d'IIM à *S. aureus* de 61 isolats provenant de taures au vêlage. Les sources possibles par ordre d'importance étaient : le lait (70 %, 43 des 61 isolats), les sites corporels des taures (39 %, 24 des 61 isolats), l'environnement (28 %, 17 des 61 isolats) et aucune source identifiée (16 %, 10 des 61 isolats). Le lait était la seule source possible dans 41 % des cas (25 des 61 isolats) tandis que les sites corporels étaient la seule source dans 5 % des cas (3 des 61 isolats). L'environnement n'était jamais la seule source possible.

Le fait demeure que les taures sont affectées d'IIM au vêlage à des prévalences parfois très élevées et qu'en moyenne 5 à 10 % des taures vêlent infectées par *S. aureus* qui constitue la bactérie ayant les répercussions les plus coûteuses étant donné les dommages causés par cette bactérie et la faible réponse au traitement antibiotique.

Tableau III. Résumé des études portant sur les proportions de quartiers présentant des infections intra-mammaires (IIM) en période post-partum chez les taures laitières.

Référence	Lieu	Taure (n)	Type ¹ échantillon	Quartier (n)	Proportion (%)					
					IIM	SCN ²	AB ³	Env. ⁴	Autre	
Oliver et Mitchell (1983)	Massachusetts	32	Q	128	31.2	18.8	0.8	12.5	0.8	
Bray et coll. (1989)	Floride	265	Q		76.8	23.2	5.4	3.8		
Trinidad et coll. (1990b)	Louisiane	93	Q		80.9	53.8	4.4	11.8	8.2	
Trinidad et coll. (1990b)	Louisiane	38	C		97.4		15.8			
Pankey et coll. (1991)	Vermont	382	Q		18.3	11.4	0.7	4.8	1.7	
Cook et coll. (1992)	Idaho	525	C		57.0	43.0	6.0		8.0	
Matthews et coll. (1992)	Kentucky	36	Q			28.2	7.6			
Nickerson et coll. (1992)	Louisiane	600	Q		41.6	27.9	8.0	4.2	1.4	
Oliver et coll. (1992)	Tennessee	41	Q	164	44.5	39.0	0.6	4.9		
Roberson et coll. (1994)	Washington	828	C		46.0	39.0	8.0	13.0		
Fox et coll. (1995)	Californie	95	Q	379	22.3	14.9	1.0	2.8	1.5	
	Louisiane	91	Q	363	34.2	19	6.6	6.9	1.7	
	Vermont	44	Q	173	38.2	27.1	1.2	8.2	1.8	
	Washington	67	Q	267	26.5	15.1	2.3	2.6	4.5	
Owens et Ray (1996)	Louisiane	17	Q	68	40.7	19	11.8	8.8	1	
Oliver et coll. (1997a)	Tennessee	42	Q	162	60.5	48.8	1.9	11.1		

¹ Q = quartiers et C = composite

² Staphylocoque coagulase-négative

³ *Staphylococcus aureus*

⁴ Agents pathogènes environnementaux (coliformes et streptocoques non-*agalactiae*)

5 Prévalence et rôles des staphylocoques coagulase-négative chez les taures

5.1 Prévalence des staphylocoques coagulase-négative chez les taures

Les Staphylocoques coagulase-négative (SCN), exception faite de *Staphylococcus hyicus*, sont considérés habituellement comme des bactéries de la flore normale rarement responsables de cas de mammite clinique. Par contre, dans au moins 2 études (Waage et coll., 2001 ; Jonsson et coll., 1991), les SCN sont responsables de 10 à 12 % des cas de mammite clinique au vêlage. Certaines sous-espèces de SCN semblent plus virulentes que d'autres et même plus prévalentes que *S. hyicus*. En effet, *Staphylococcus simulans* (53.7 %) était le SCN le plus souvent isolé dans des échantillons de lait provenant de taures mammites en début de lactation (< 14 jours) suivi de *Staphylococcus chromogenes* (14.8 %) et de *S. hyicus* (14.8 %) (Waage et coll., 1999).

Chez les bovins, on retrouve environ 40 espèces différentes de SCN dont la distribution est variable selon les différentes parties du corps, la peau des trayons, le canal du trayon et les sécrétions lactées (NMC, 2004). *Staphylococcus xylosus*, *S. chromogenes* et *Staphylococcus warneri* sont isolés le plus souvent sur les diverses parties du corps. Les deux SCN les plus fréquemment isolés sur la peau des trayons sont *S. xylosus* et *S. chromogenes* tandis que ceux les plus souvent retrouvés au niveau du canal du trayon sont *S. chromogenes* et *S. hyicus* (Boddie et coll., 1987 ; Sheerer et Harmon, 1993).

La prévalence des différentes espèces de SCN présentes dans les sécrétions lactées des taures varie légèrement selon les études. Dans les études de Aarestrup et Jensen (1997) et de Matthews et coll. (1992), les SCN les plus fréquemment isolés des sécrétions lactées par ordre d'importance étaient : *S. chromogenes*, *S. simulans* et *Staphylococcus epidermidis*. Dans l'étude de Myllys (1995), *S. simulans* et *S. hyicus* étaient les deux bactéries les plus présentes dans les sécrétions de taures mammites et saines tandis que Daniel et coll. (1987) rapportent que les SCN les plus souvent isolés dans le lait de taures

(n = 61) dans les trois premiers mois de la lactation sont : *S. hyicus*, *S. simulans*, *Staphylococcus hominis* et *S. epidermidis*. Des différences régionales et entre les troupeaux expliquent probablement la variation des espèces bactériennes retrouvées.

On rapporte également que certains SCN, comme *S. xylosus*, pourraient vivre dans l'environnement (litière, ensilage) (Matos et coll., 1991 ; Oliver et coll., 2004a). Cette présence dans l'environnement doit être prise en compte pour l'élaboration de principes de prévention et de contrôle des IIM.

5.2 Importance clinique des infections intra-mammaires causées par les staphylocoques coagulase-négative

Bien que les SCN soient considérés comme des agents pathogènes mineurs, ils sont responsables de plusieurs mammites cliniques chez les taures et certaines études semblent indiquer qu'ils pourraient entraîner des conséquences plus importantes que chez les vaches pluripares vu leur prévalence plus élevée et leur persistance plus longue. En effet, les taures infectées par un SCN avant le vêlage ont deux fois plus de chance de le demeurer suite au vêlage que les vaches pluripares (Matthews et coll., 1992) (Tableau IV). Malgré qu'une certaine proportion de taures élimine spontanément une infection causée par un SCN, 60 % des taures infectées le demeurent durant plus d'une lactation (Boddie et coll., 1987).

Les IIM causées par les SCN ont des répercussions tant au niveau de la production lactée que du CCS des vaches et taures infectées. Dans une étude suédoise, Linde (1982) conclut qu'une IIM causée par un SCN chez une vache pluripare diminue la production lactée de 10.3 % par rapport aux quartiers sains adjacents. Une autre étude (Harmon et Langlois, 1989) conclut que le CCS d'un quartier infecté par un SCN est deux à trois fois plus élevé qu'un quartier sain.

Tableau IV. Proportion de quartiers infectés avec des bactéries staphylocoques coagulase négative avant et après le vêlage chez des primipares (n = 36) et des pluripares (n = 77) (tiré de Matthews et coll., 1992).

Période d'échantillonnage	Vaches primipares (%)	Vaches pluripares (%)
Pré-partum	38.9	50.3
Vêlage	27.8	12.3
Semaine 1 post-partum	15.3	6.8
Semaine 2 post-partum	14.6	8.1
Semaine 3 post-partum	13.2	10.7
Semaine 4 post-partum	15.3	9.2

6 Guérison spontanée et nouvelles infections intra-mammaires

6.1 Guérison des infections intra-mammaires

La guérison bactériologique d'un quartier est habituellement considérée lorsqu'une bactérie spécifique présente lors d'un échantillonnage pré-vêlage n'est pas retrouvée en période post-partum. Si cette guérison s'est produite sans aucun traitement, on parle de guérison spontanée apparente. La proportion de guérison calculée à partir de ces données varie selon les pathogènes impliqués.

Selon toutes les études, les bactéries SCN sont celles dont la prévalence diminue le plus en période post-vêlage par rapport à la période pré-vêlage. En effet, ce pourcentage varie de 20 à 66 % (Oliver et Mitchell, 1983; Matthews et coll., 1992; Owens et Ray, 1996; Oliver et coll., 1992; Fox et coll., 1995; Oliver et coll., 1997a). Une des causes avancées pour expliquer ce pourcentage de guérison élevé serait que certains SCN coloniseraient seulement le canal du trayon et l'effet de vidange associé avec le début de la lactation éliminerait ainsi ces infections (Myllys, 1995).

Les proportions de guérison pour les autres classes de bactéries sont très variables en raison de la très faible prévalence des pathogènes. Par exemple, lorsque seulement 3 quartiers sont infectés par une bactérie, le pourcentage de guérison variera de 0 à 100 % selon que 0, 1, 2 ou 3 quartiers seront guéris. C'est le cas dans l'étude de Oliver et Mitchell (1983) et de Oliver et coll. (1992) où le pourcentage de guérison pour *S. aureus* est de 67 % mais où seulement 2 quartiers sont guéris suite au vêlage. Dans des études avec un nombre un peu plus important de taures, les pourcentages de guérison des différents pathogènes se situent entre 3% et 64% (Fox et coll., 1995; Matthews et coll., 1992; Nickerson et coll., 1995; Owens et Ray, 1996; Oliver et coll., 1997a; Oliver et coll., 2003; Roberson et coll., 1994).

Le pourcentage de guérison pour les bactéries de l'environnement comme les streptocoques et les coliformes varient de 0 à 50 % (Oliver et Mitchell, 1983; Nickerson et coll., 1995; Owens et Ray, 1996; Oliver et coll., 1992; Oliver et coll., 2003). La proportion de guérison peut toutefois être nul et le nombre de nouvelles IIM important. Une bactérie peut donc parfois être plus prévalente en période post-partum que pré-partum (Fox et coll., 1995). En effet, dans cette dernière étude, la prévalence d'IIM d'agents pathogènes environnementaux en période post-vêlage était 10 fois supérieure à la prévalence en période pré-vêlage.

En général, la proportion de guérison augmente plus la lactation avance, tel que remarqué dans des études effectuant des échantillonnages répétés au cours de la lactation (Edinger et coll., 2000; Oliver et coll., 2003). La proportion de guérison apparente augmente donc entre le vêlage et les premiers jours en lait (JEL) suite à la vidange du quartier lors de la traite mécanique mais dépend également de la bactérie impliquée.

6.2 Proportion de nouvelles infections intra-mammaires

La proportion de nouvelles infections intra-mammaires est une donnée intéressante à connaître afin de s'assurer que le fait de manipuler les animaux et de récolter un échantillon de lait ou un écouvillon du canal du trayon avant le vêlage n'entraîne pas de nouvelles infections intra-mammaires (NIIM).

Dans l'étude de Owens et Ray (1996), on observe 4 % de NIIM pour chacune des bactéries identifiées chez les taures pour un total de 15 % de NIIM suite à un échantillonnage 3 mois avant le vêlage. De même, Trinidad et coll. (1990b) rapportent 14 % de NIIM suite à des prélèvements remontant parfois jusqu'à la période des inséminations. Dans l'étude de Owens et coll. (2001), 2.9 % des quartiers présentaient au vêlage une NIIM causée par *S. aureus* suite à un échantillonnage pouvant remonter également jusqu'au moment de l'insémination.

Fox et coll. (1995) rapportent plusieurs données qui indiquent un grand nombre de nouvelles infections en fin de gestation causées par des agents pathogènes environnementaux. En effet, alors que seulement 1.5 % des quartiers étaient infectés par un agent pathogène environnemental en période pré-vêlage, 7.7 % des quartiers l'étaient en période post-vêlage ce qui représente une augmentation importante.

De plus, Fox et coll. (1995) démontrèrent une augmentation statistiquement significative entre la prévalence d'IIM des quartiers ayant été échantillonnés avant le vêlage et ceux sans manipulation avant le vêlage (37.3 % vs 34.4 %). Toutefois, cette différence était considérée minime, i.e. < 5 %. À l'opposé, Trinidad et coll. (1990b) ne rapportent aucune différence significative entre la prévalence d'IIM au vêlage de taures échantillonnées en période pré-vêlage par rapport à cette même prévalence de taures non-échantillonnées du même troupeau au cours des 6 années précédentes.

En résumé, une seule étude (Fox et coll., 1995) a démontré clairement une augmentation significative des NIIM causée par la prise d'un échantillon de lait pré-vêlage.

Les autres études ont démontré une proportion de NIIM d'environ 15 % chez les taures échantillonnées ou non. L'ouverture du canal du trayon avant le vêlage semble comporter peu de risque, le bouchon de kératine au niveau du sphincter du trayon se reformant probablement en quelques heures.

6.3 Persistance des infections intra-mammaires durant la lactation

Les IIM observées chez les taures en période pré-vêlage peuvent persister plus d'un an dans la glande mammaire (Boddie et coll., 1987) même si une proportion importante de taures deviennent saines dans les premiers jours de la lactation (Edinger et coll., 2000; Oliver et coll., 2003).

Oliver et coll. (1997b) rapportent que la prévalence moyenne d'IIM durant la lactation des taures faisant partie du groupe témoin de deux études précédentes effectuées par leur groupe se situe entre 30 et 40 % des quartiers. Les streptocoques étaient les agents pathogènes majeurs les plus fréquents dans cette étude. Daniel et coll. (1987) ont obtenu une persistance d'IIM dans 7 % des quartiers et 25 % des taures au cours des 3 premiers mois de la lactation. Ces IIM étaient causées principalement par les SCN. La persistance de la bactérie *S. aureus* est cependant plus élevée puisque Roberson et coll. (1994) ont obtenu une persistance de 40 % des IIM causé par *S. aureus* 1 mois après le vêlage.

La persistance des différentes espèces de SCN semble variable selon Aarestrup et Jensen (1997). En effet, *S. simulans* persistait dans le premier mois post-partum, contrairement à *S. epidermidis* dont la prévalence en période post-partum passait de 15 % à 1 % en moins de 4 semaines. Ces chercheurs avancent l'hypothèse d'une meilleure adaptation de *S. simulans* pour causer une IIM persistante par rapport à *S. epidermidis*.

7 Pertes associées à la mammite chez les primipares

7.1 Pertes de production

Une analyse histologique de la glande mammaire de taures non gravides a été effectuée dans 2 études afin de vérifier les changements possibles suite à une IIM. Dans une première étude incluant 7 taures non gravides, Owens et coll. (1991) ont obtenu une augmentation significative de l'infiltration leucocytaire des tissus mammaires chez les taures infectées par *S. aureus* mais pas de différence entre les proportions de tissu épithélial et sécrétoire entre les taures infectées et non infectées. Il n'y avait pas de différence significative au niveau histologique entre les taures infectées naturellement ou expérimentalement 12 à 14 semaines pré-vêlage. En effet, on aurait pu supposer que les infections expérimentales, présentent depuis seulement 3 mois, auraient causé moins de dommages histologiques étant donné la durée moindre de l'infection.

Dans une deuxième étude, Nickerson et coll (1995) (Tableau V) démontre que les infections causées par les SCN ainsi que *S. aureus* pourraient causer des dommages aux tissus glandulaires du pis lorsque l'infection est présente en période pré-partum. L'analyse histologique de la glande mammaire de 7 taures démontre que les IIM causées par les SCN et *S. aureus* produisent une augmentation des tissus du stroma au détriment des tissus glandulaires (épithélium, canaux et sinus). Cette perte de tissu glandulaire est irréversible et d'autant plus importante que la majorité du développement du parenchyme mammaire s'effectue durant la première gestation (Fox et coll., 2004).

Tableau V. Analyse histologique du parenchyme mammaire de sept taures nullipares saines ou infectées par un staphylocoque coagulase négative (SCN) ou *Staphylococcus aureus* (AB) (tiré de Nickerson et coll., 1995).

Tissu	Quartier sain	Quartier SCN	Quartier AB
Épithélium (%)	30.0	28.3	26.4 ¹
Canaux glandulaires (%)	11.3	9.5	6.5 ¹
Stroma (%)	58.7	62.2 ¹	67.1 ¹

¹différences significatives (P < 0.05)

Un CCS $> 200 \times 10^3$ c/mL est souvent présent lors d'IIM par un SCN et une perte de lait d'environ 200 kg par lactation est associée à cette situation (Boddie et coll. 1987). Myllys et Rautala (1995) quant à eux, rapportent une perte de lait chez les taures présentant une mammite clinique de 70 à 80 kg de lait ($n = 2280$).

Une perte de tissu glandulaire est donc associée à une IIM et cette perte est d'autant plus critique qu'elle survient durant la phase de croissance et de développement la plus importante des taures. Plus la perte de tissu glandulaire sera importante, plus la perte de production laitière sera potentiellement grande. Des études, afin de quantifier ces pertes, n'ont toutefois pas été réalisées.

7.2 Pertes associées au comptage des cellules somatiques

Une étude exhaustive effectuée en Belgique (Vlieghe et coll. 2004) incluant 14766 taures provenant de 3287 troupeaux a étudié l'évolution du CCS et de la production laitière des taures suite au premier vêlage. Le CCS moyen était de 74.9×10^3 c/mL. Le CCS diminue progressivement entre le 5^e JEL et le 14^e JEL passant de 178.5×10^3 c/mL à 74.8×10^3 c/mL. Les taures ont été stratifiées selon leur CCS au premier test. Les taures ayant un CCS $< 51 \times 10^3$ c/mL au premier test avaient en moyenne un CCS plus faible de 40×10^3 c/mL pour le reste de la lactation en comparaison avec les taures ayant un CCS entre 51×10^3 c/mL et 200×10^3 c/mL au premier test. Cet écart augmentait avec les autres strates comme par exemple un écart de 120×10^3 c/mL par rapport au groupe ayant un CCS au premier test situé entre 201×10^3 c/mL et 500×10^3 c/mL. Cet écart se répercutait sur la production laitière puisque les taures ayant un faible CCS ($< 51 \times 10^3$ c/mL) au premier test ont produit entre 0.5 et 1 kg de lait de plus par jour que les autres taures. Ces données illustrent l'importance de prévenir ou d'éliminer l'IIM le plus tôt possible puisque la perte de lait associée à un CCS élevé au premier test peut être importante.

Dans l'étude de Trinidad et coll. (1990a), le CCS pré-vêlage des quartiers présentant une IIM détectée au niveau du canal du trayon ou des sécrétions mammaires était de

13.6 x 10⁶ c/mL alors que celui des quartiers sains était de 5.7 x 10⁶ c/mL. L'infection seule du canal du trayon produisait également une augmentation du CCS (9.3 x 10⁶ c/mL) par rapport aux quartiers sains (4.9 x 10⁶ c/mL). Les quartiers infectés par *S. aureus* présentaient un CCS de 17.3 x 10⁶ c/mL, ceux infectés par *S. chromogenes* présentaient un CCS de 12.8 x 10⁶ c/mL et ceux infectés par *S. hyicus*, un CCS de 12.4 x 10⁶ c/mL.

Dans l'étude de Owens et coll. (1991), le CCS des quartiers sains pré-vêlage était de 6 x 10⁶ c/mL alors que celui des quartiers infectés par *S. aureus* était de 20 à 30 x 10⁶ c/mL.

Boddie et coll. (1987) ont obtenu des CCS pré-vêlage de 24 taures et ils étaient de 8.5 x 10⁶ c/mL pour les quartiers infectés et de 3.5 x 10⁶ c/mL pour les quartiers sains comparativement à 3.2 x 10⁶ c/mL pour les taures infectées et 1.6 x 10⁶ c/mL pour les taures saines le jour du vêlage. Le CCS moyen des 3 premiers mois de lactation était de 168, 193, 578 et 39 x 10³ c/mL pour les taures infectées par *S. chromogenes*, *S. hyicus*, *S. aureus* et les taures saines respectivement.

Dans l'étude de Myllys et Rautala (1995), le CCS au premier test post-partum était significativement plus bas pour le groupe de taures saines par rapport au groupe de taures traitées pour la mammite. La même observation a été rapportée par Hallberg et coll. (1995) autant lors de la période pré-vêlage que post-vêlage.

Le CCS est donc significativement augmenté lors d'IIM autant au vêlage qu'avant celui-ci ou plus tard en lactation. Les IIM causés par la bactérie *S. aureus* provoquent la plus forte augmentation du CCS. Une perte de production est associée à cette augmentation de CCS.

7.3 Autres pertes associées

Les pertes de production de lait et l'augmentation du CCS ne sont pas les seules pertes causées par la mammite chez les taures. En effet, la colonisation du canal du trayon par différentes bactéries peut causer une thélite pouvant mener à la perte d'un quartier au

moment du vêlage en raison des dommages causés au trayon. Trinidad et coll. (1990b) rapportent une prévalence de 1.7 % de quartiers non-fonctionnels chez les primipares au vêlage. Pankey et coll. (1991) rapportent 5 quartiers non-fonctionnels au vêlage soit 0.3 % des quartiers et 1.3 % des taures. Oliver et coll. (2004b) rapportent une prévalence de quartiers non-fonctionnels de 1.6 % au vêlage.

Finalement, Myllys et Rautala (1995) rapportent un pourcentage de réforme plus élevé de 4 % chez les taures présentant une mammite.

8 Facteurs de risque d'infections intra-mammaires chez les taures

8.1 Facteurs de risque liés à l'animal

Plusieurs facteurs de risques d'IIM chez les taures au vêlage ont été évalués afin de pouvoir établir des méthodes de préventions efficaces pour en réduire la prévalence. Les facteurs les plus importants à considérer selon Vlieghe et coll. (2004) sont les facteurs présents au niveau de la taure et non du troupeau ou des pratiques d'élevage.

Dans une étude norvégienne, Waage et coll. (2001) concluent que la présence de sang dans le lait, la présence d'œdème mammaire, la présence d'œdème des trayons ainsi que la perte de lait entre les traites au moment du vêlage constituaient des facteurs de risque de mammite clinique chez les taures dans les deux premières semaines post-partum. Dix pourcent (10 %) des taures sans mammite clinique et 27 % des taures avec une mammite clinique présentaient du sang dans le lait ce qui constituait un rapport de cote de 3.4. Par conséquent, les taures présentant du sang dans le lait au moment du vêlage avait un risque 3.4 fois plus élevé de développer un épisode de mammite clinique dans les 2 premières semaines post-partum que les taures sans présence de sang dans le lait. La présence d'œdème mammaire modéré à sévère augmentait le risque de développer une mammite de 1.7 fois tandis que la présence d'œdème du trayon augmentait le risque par un facteur de 2.2. Finalement, la perte de lait au vêlage augmentait le risque de développer une mammite

clinique par un facteur de 1.5. Ce facteur de risque était déjà identifié chez les taures par Myllys et Rautala (1995) et Waage et coll. (1998).

L'âge des taures semble également être un facteur de risque avec un effet parfois contradictoire. En effet, les taures plus vieilles étaient plus sujettes aux IIM dans l'étude de Fox et coll. (1995) et de Waage et coll. (1998). Par contre, une étude Belge (Vlieghe et coll., 2004) rapporte un CCS plus faible chez les taures vêlant > 27 mois d'âge ce qui peut suggérer que les IIM sont également moins présentes.

Le trimestre de gestation influençait la prévalence d'IIM. Elle était plus élevée durant le dernier trimestre de gestation (Fox et coll., 1995) et plus basse durant le premier trimestre (Trinidad et coll., 1990a).

Owens et coll. (2001) ont démontré que les quartiers présentant des cicatrices ou des abrasions sur les trayons présentaient près de deux fois plus d'IIM causées par *S. aureus* (12.2 % vs 6.9 %) que les quartiers avec des trayons intacts. La même observation est notée par Nickerson et coll. (1995) alors que 70 % des taures avec des lésions aux trayons présentaient une IIM comparativement à 40 % des taures avec des trayons sans lésion. La relation entre les lésions de trayon et les IIM s'explique mieux en considérant l'étude de Matos et coll. (1991) où 40 % des lésions au niveau des trayons étaient infectées par *S. aureus*. Les lésions étaient plus présentes chez les taures entre 3 et 12 mois d'âge mais étaient attribuées à la présence de mouches au pâturage plutôt qu'au groupe d'âge.

L'âge des taures, le trimestre de gestation, la condition des trayons et du pis (oedème, abrasion), l'apparence du lait (présence de sang) et les pertes de lait sont les facteurs de risque liés à l'infection les plus importants à considérer au niveau de l'animal.

8.2 Facteurs de risque liés au troupeau

Les mouches constituent des vecteurs mécaniques possibles d'IIM dans les troupeaux laitiers et leur contrôle peut réduire la dissémination des pathogènes dans les troupeaux

(Nickerson et coll., 1995; Roberson et coll., 1998). Par contre, ce facteur n'était pas statistiquement significatif dans l'étude de Waage et coll. (1998).

Une étude de Martin-Richard (2001) rapportée par Oliver et coll. (2004a) identifie les facteurs de risque suivants : vêlage en été, CCS élevé du troupeau, présence de *S. aureus* et de *Mycoplasma* spp., absence de contrôle des mouches, l'alimentation des veaux avec du lait mammitieux, les contacts entre les veaux, les contacts avec des vaches adultes, mauvaises pratiques de traite et mauvaises conditions environnementales.

L'élevage individuel ou en groupe des génisses ne constituait pas un facteur de risque dans l'étude de Waage et coll. (1998). Par contre, Roberson et coll. (1998) indiquent que les contacts entre les taures sont un mode de transmission important pour la bactérie *S. aureus*.

La saison et la localisation géographique des troupeaux constituaient des facteurs à considérer dans deux études norvégiennes de Waage et coll. (1998 et 1999) et une étude suédoise de Jonsson et coll. (1991). De même, la saison, la localisation géographique des troupeaux et le troupeau influençaient la prévalence d'IIM dans une étude de Fox et coll. (1995) réalisée dans 4 états américains (Californie, Louisiane, Vermont et Washington). En effet, les taures provenant de la Louisiane étaient les plus infectées par opposition à celles du Vermont. Les mois d'hiver étaient associés également à une plus grande prévalence. Le troupeau avait également un effet sur la prévalence des IIM et le type de bactéries rencontrées dans l'étude de Trinidad et coll. (1990a).

La qualité du troupeau d'où proviennent les taures ne semble pas avoir un impact majeur sur la prévalence au vêlage mais plutôt sur la prévalence en fin de 1^{re} lactation. En effet, Fox et coll. (1991) concluent que les taures provenant de troupeaux avec un CCS élevé ($> 400 \times 10^3$ c/mL) et celles provenant de troupeaux avec un CCS faible ($\leq 150 \times 10^3$ c/mL) ont des prévalences d'IIM semblables au vêlage mais que celles provenant des troupeaux avec un CCS élevé augmentent de 0.5 point leur pointage linéaire en fin de lactation comparativement à une baisse de 0.25 point du pointage linéaire pour les troupeaux avec un CCS faible. De même, Roberson et coll. (1994) ont étudié 18 troupeaux

dont la moitié présentait une prévalence de plus de 10 % de vaches positives à *S. aureus* et l'autre moitié, moins de 5 %. Les taures issues de ces deux groupes de troupeaux présentaient une prévalence d'IIM à *S. aureus* au vêlage de 9.2 % et 6.9 % respectivement pour les troupeaux de forte et faible prévalence ($P > 0.05$). Par contre, au tarissement, la prévalence était passée à 2.6 % chez les taures provenant de troupeaux avec une faible prévalence de vaches positives à *S. aureus* et à 20 % chez les taures provenant de troupeaux plus infectés ($P < 0.05$).

Si la qualité du troupeau d'origine ne semble pas avoir trop d'influence au niveau de la prévalence d'IIM au vêlage, il a tout de même des effets au niveau du CCS et du risque de mammites cliniques en début de lactation. Dans l'étude de Vlieghe et coll. (2004), les taures appartenant à des troupeaux ayant un CCS élevé au niveau du réservoir étaient plus sujettes à avoir un CCS au vêlage plus élevé également. Par contre, les taures provenant de troupeaux ayant une moyenne de production élevée (> 7000 kg par lactation) étaient plus à risque de développer une mammite par un facteur de 1.70 selon Myllys et Rautala (1995).

9 Prévention des infections intra-mammaires chez les taures laitières primipares

Plusieurs méthodes de prévention reliées aux facteurs de risque décrits dans la section précédente ont été évaluées. Il s'agit du bain de trayon pré-vêlage, de la vaccination des taures, de l'alimentation lactée des veaux, du logement des veaux et des génisses et du contrôle de l'environnement.

9.1 Bains de trayon pré-vêlage

L'utilisation d'un bain de trayon en période pré-partum a été évalué pour réduire la prévalence d'IIM au moment du vêlage. Cette approche n'a donné que des résultats mitigés selon Matthews et coll (1988), Schultze (1985) et Edinger et coll. (2000). Dans cette

dernière étude, l'effet d'un bain de trayon contenant 0.1 % d'iode polyvidone appliqué 3 fois par semaine sur 2 des 4 quartiers de 149 taures à partir de 260 jours de gestation et jusqu'au vêlage a été analysé par rapport à la prévalence d'IIM et de mammite clinique pendant les 5 premiers JEL. Il n'y avait pas de différence significative entre les quartiers recevant une application de bains de trayons par rapport aux quartiers contrôles ($P > 0.05$). Schultze (1985), quant à lui, avait utilisé un bain de trayon appliqué 2 fois par jour pendant les 7 jours précédant le vêlage sur 70 vaches. Aucune différence significative n'a été observée entre le groupe traité et le groupe témoin autant au niveau des nouvelles IIM au vêlage que des nouvelles IIM persistant plus de 14 jours ou au niveau des nouvelles IIM nécessitant un traitement antibiotique. L'utilisation du bain de trayon en période pré-vêlage chez les taures n'est pas une mesure de prévention adéquate probablement en raison de la présence d'IIM chez une forte proportion de sujets plusieurs semaines ou mois précédant le vêlage. Seules les nouvelles IIM durant la période d'application du bain de trayon pourraient être évitées mais cela reste toutefois à être prouvé.

9.2 Vaccination des taures contre *Staphylococcus aureus*

Les quelques études sur la vaccination des taures contre *Staphylococcus aureus* ont des conclusions ambivalentes. En effet, Nordhaug et coll. (1994) réalisèrent une étude sur 108 taures et aucune taure du groupe traité ne développa de mammite clinique causée par *S. aureus*. Par contre, 8.6 % des taures traitées étaient positives à *S. aureus* lors de mammite sous-clinique et 29.3 % étaient infectées sans signe de mammite clinique ou sous-clinique. Dans le groupe témoin, 16.0 % des taures développèrent une mammite clinique ou sous-clinique à *S. aureus* et 22 % présentaient une infection latente. Ces résultats suggèrent que le vaccin ne peut prévenir l'infection mais que les signes cliniques de mammite seraient diminués. Le CCS moyen tout au long de la lactation n'était pas différent entre les deux groupes. Aucune différence significative n'était notée quand la vache était l'unité d'intérêt. Les réactions localisées suite au vaccin étaient présentes chez un grand nombre de taures ($n = 32$, 69.6 %) et les réactions systémiques ont été rapportées sur 3 taures (6.5 %).

Dans une autre étude de Tenhagen et coll. (2001), l'administration d'un vaccin spécifique à un troupeau à 2 reprises avant le vêlage n'a pas diminué la prévalence de la bactérie ou l'incidence des cas de mammites chez les sujets traités (n = 164) par rapport au groupe témoin (n = 157). Le vaccin ne semblait pas efficace dans ce troupeau.

Cette approche a l'avantage majeur de ne pas nécessiter l'utilisation d'antibiotique et d'ainsi éviter les risques de résidus ou de résistance microbienne. Par contre, le désavantage majeur est que le vaccin ne peut prévenir qu'une seule bactérie spécifique soit *S. aureus* (Oliver et coll., 2004a). De plus, d'autres études sont nécessaires afin de démontrer l'utilité de cette approche.

9.3 Alimentation des veaux

Malgré que la transmission par le lait d'une vache positive à *S. aureus* à un veau non sevré n'ait jamais été prouvée, il est recommandé d'éviter de nourrir les veaux avec du lait de vaches infectées avec un agent pathogène majeur. Ceci est basé sur une seule étude où Schalm (1942) réussit à infecter un veau en le nourrissant avec du lait infecté par la bactérie *S. agalactiae*. Barto et coll. (1982) ne réussirent pas à infecter des veaux en les nourrissant avec du lait contenant du *S. aureus* à raison de deux fois par semaine pendant les quatre premières semaines de vie. La nécropsie de 10 veaux mâles inclus dans l'étude était pratiquée 2 semaines suivant l'administration du dernier repas et n'a pas révélé la présence de *S. aureus* dans aucun tissu. Les génisses de cette étude étaient suivies jusqu'au vêlage. Deux taures (6.9 %) nourries avec du lait infecté présentaient une IIM au moment du vêlage contre 5 taures (14.3 %) qui étaient infectées dans le groupe témoin. Dans une autre étude, Roberson et coll. (1994) n'ont pas trouvé d'association entre l'alimentation des veaux avec du lait mammitique et la prévalence d'IIM au vêlage des taures.

La transmission des bactéries de la famille des mycoplasmes par le lait semble se produire par la dissémination à différents systèmes (respiratoire, articulaire) lors d'infection. On peut supposer que la glande mammaire pourrait également s'infecter par voie sanguine. L'alimentation des veaux avec du lait de vaches mammitiques ainsi que la

présence de vaches infectées par la bactérie *S. aureus* ou *Mycoplasma* spp. étaient des facteurs de risque d'IIM chez les taures dans l'étude de Martin-Richard (2001) rapportée par Oliver et coll. (2004a) ce qui renforce la décision de ne pas utiliser le lait provenant des vaches du troupeau pour l'alimentation des veaux, exception faite du colostrum.

9.4 Logement des veaux et des génisses

Afin d'éviter que les génisses ne se têtent entre elles, la ségrégation des sujets dès le plus jeune âge est recommandée, même si cette voie de contamination n'est pas encore totalement prouvée. En effet, Roberson et coll. (1994) n'ont pas mis en évidence de relation entre la possibilité de tétage des veaux et la prévalence d'IIM au vêlage. Selon une étude de Meaney (1981), les taures élevées en stabulation entravée ou libre ont une prévalence d'IIM au vêlage 2.4 fois plus élevée que des taures élevées au pâturage. Waage et coll. (1998) abondent dans le même sens puisque les taures de leur étude, élevées au pâturage l'été, étaient moins à risque de développer une mammité. Finalement, les taures vèlant dans un parc avec un plancher latté avaient un CCS au vêlage plus faible que celles vèlant sur un plancher uni selon Vlieghe et coll. (2004).

Ces données indiquent que les conditions environnementales d'élevage se répercutent sur la santé du pis des taures au vêlage.

9.5 Contrôle de l'environnement

Des mesures de prévention et d'hygiène générale doivent être appliquées afin de réduire au maximum les risques de nouvelles IIM surtout causées par des agents pathogènes environnementaux. Un environnement propre et sec en tout temps est toujours de mise et ceci autant dans les parcs de vêlage que dans les huttes ou parcs des sujets de remplacement tout au long de leur élevage (Fox et Roberson, 1993 ; Nickerson et coll., 1995 ; Oliver et coll., 2004a ; Sheerer et Harmon, 1993 ; Waage et coll. 2001). Le contrôle des mouches est une mesure à appliquer également (Matos et coll., 1991; Owens et coll., 1998; Nickerson et coll., 1995; Roberson et coll., 1998).

Toutes ces mesures utiles ne sont pas toujours faciles à mettre en application pour diverses raisons et ne parviennent pas à diminuer totalement les risques d'IIM chez les taures au moment du vêlage. Le traitement des infections existantes est donc une avenue envisagée.

10 Contrôle des infections intra-mammaires chez les taures laitières primipares par l'usage d'antibiotiques intra-mammaires

10.1 Susceptibilité in vitro aux antibiotiques des bactéries provenant des glandes mammaires de taures

Une étude de Watts et coll. (1995) a utilisé 135 isolats de *S. aureus*, 1222 isolats de SCN, 42 isolats de *Streptococcus* spp, 15 isolats d'*Enterococcus* spp et 60 isolats de bactéries entériques afin d'établir les concentrations minimales inhibitrices 90 % (CMI 90) des antibiotiques suivants : pénicilline, cloxacilline, céphapirine, ceftiofur, novobiocine, enrofloxacin, érythromycine et pirlimycine. Les résultats démontrèrent une bonne activité de tous les antibiotiques contre les staphylocoques, une activité variable contre les streptocoques et une activité faible contre les bactéries entériques. La pirlimycine, de la classe des lincosamides, agit en inhibant la protéine de synthèse ARN dépendante dans les ribosomes. Cet antibiotique avait un bon effet contre les staphylocoques et *S. dysgalactiae*, mais un effet variable selon les souches de *S. uberis*. Son effet contre les bactéries à Gram négatif était très faible.

Myllys (1995) rapporte une résistance des espèces de SCN au triméthoprime-sulfonamide, à l'ampicilline et à l'érythromycine. Les souches de *S. aureus* étaient résistantes aux pénicillines sensibles aux bêta-lactamases.

Trinidad et coll. (1990c) ont étudié par la méthode de diffusion en gélose, la susceptibilité à douze antibiotiques différents de souches provenant des sécrétions mammaires et du canal du trayon de 85 taures primigravides. Quatre-vingt-douze pour-cent (92 %) des 311 isolats étaient susceptibles aux antibiotiques utilisés. Les bactéries SCN étaient susceptibles à 98.3 % alors que les bactéries *S. aureus* l'étaient à 97 %. Les isolats provenant du canal du trayon étaient légèrement moins susceptibles aux antibiotiques (93.1 %) que les isolats provenant des sécrétions lactées (98.1 %). Ces susceptibilités sont plus élevées que celles rapportées chez les vaches en lactation ce qui donne au traitement antibiotique chez les taures en période pré-vêlage un avantage possible.

Staphylococcus aureus est une bactérie très difficile à traiter pour plusieurs raisons. Cette bactérie est très présente dans l'environnement, elle peut changer pour la forme L, sa phagocytose par les macrophages lui permet d'éviter le système immunitaire, et les antibiotiques diffusent mal dans le tissu cicatriciel et les micro-abcès induits par l'infection (Trinidad et coll. 1990b). Par contre, la susceptibilité aux antibiotiques *in vitro* des souches retrouvées chez les taures étant supérieure que chez les vaches pluripares, on peut supposer que la réponse *in vivo* pourrait l'être également (voir section suivante).

10.2 Traitement antibiotique intra-mammaire

Le traitement antibiotique intra-mammaire (produit en lactation ou au tarissement) en période pré-vêlage est la méthode de contrôle la plus étudiée puisqu'elle a l'avantage sur le traitement en lactation de ne pas nécessiter de rejet de lait. L'infusion intra-mammaire avec différents antibiotiques a été évaluée dans plusieurs études et les résultats sont intéressants.

10.2.1 Traitement antibiotique intra-mammaire avec un produit longue action

Trinidad et coll.(1990b) en Louisiane ont réalisé une étude (Tableau VI) en infusant par voie intra-mammaire une seringue de 10^6 UI de pénicilline et 1 g de dihydrostreptomycine dans tous les quartiers de 35 taures plus de 60 jours avant la date prévue de vêlage. La prévalence de taures saines a augmenté significativement dans le groupe traité (2.9 % vs 60.0 %) par rapport au groupe contrôle (0 % vs 2.6 %, $P < 0.001$). Le CCS a diminué de manière significative dans le groupe traité (11.8 vs 3.4×10^6 c/mL,

P < 0.001) mais pas significativement dans le groupe témoin (11.0 vs 5.6 x 10⁶ c/mL, P > 0.05).

Owens et coll. (1991) en Louisiane ont utilisé un produit contenant 300 mg de benzathine céphapirine 10 semaines avant la date prévue de vêlage sur des taures (n = 22) infectées expérimentalement ou naturellement à *S. aureus*. Ils rapportent que 100 % des taures infectées expérimentalement et 87 % des taures infectées naturellement éliminèrent leur IIM tandis qu'aucune taure du groupe témoin n'a guéri spontanément suite au vêlage.

Tableau VI. Proportion d'infections et comptage de cellules somatiques (CCS) pour un groupe de taures traitées avant le vêlage (n = 35) avec un produit intra-mammaire à base de pénicilline et dihydrostreptomycine et un groupe témoin (n = 38) (tiré de Trinidad et coll., 1990b).

Groupe		Pré-vêlage	Post-vêlage
Traitement	Taures infectées (%)	97.1	40
	Quartiers infectés (%)	73.2	34
	CCS (x 10 ⁶ /ml)	11.8	3.4
	Quartiers <i>S. aureus</i> (%)	17.1	2.9
Témoin	Taures infectées (%)	100	97.4
	Quartiers infectés (%)	71.2	77.8
	CCS (x 10 ⁶ /ml)	11.0	5.6
	Quartiers <i>S. aureus</i> (%)	26.3	15.8

Owens et Ray (1996) (Tableau VII), en Louisiane, ont traité un premier groupe de 17 taures avec un produit à base de 200 000 UI de pénicilline procaïne G ainsi que 400 mg de novobiocine. Un deuxième groupe de 8 taures a été infusé avec 300 mg de céphapirine sodique. Dix-sept (17) taures constituaient le groupe témoin sans traitement. Les infusions étaient effectuées de 12 à 14 semaines pré-partum. Une plus grande proportion de quartiers démontrait une guérison dans le groupe traité (59/61) par rapport au groupe témoin (19/37).

Il n'y avait pas d'effet statistiquement significatif du traitement sur les nouvelles IIM tel qu'observé dans les proportions semblables de nouvelles IIM entre les groupes traités et le groupe témoin.

Tableau VII. Effet d'une thérapie antibiotique intra-mammaire pré-vêlage de pénicilline-novobiocine (n = 25) ou de céphapirine (n = 17) administrée à des taures laitières 12 à 14 semaines précédant le vêlage (tiré de Owens et Ray, 1996).

Groupe	Bactérie	Quartier infecté prépartum (%)	Quartier guéri au vêlage (%) ¹	Nouvelle IIM ² au vêlage (%)
Traitement	<i>Staph. aureus</i>	17	94	2
	SCN ³	30	97	6
	Streptocoque	14	100	2
	<i>Nocardia</i>	0		2
	Total	61	97	12
Témoin	<i>Staph. aureus</i>	10	28	4
	SCN	34	57	4
	Streptocoque	9	50	4
	Autre	1	1	1
	Total	54	51	15

¹ Pourcentage des quartiers infectés

² Infection intra-mammaire

³ Staphylocoques coagulase-négative

10.2.2 Traitement antibiotique intra-mammaire avec un produit courte action

Dans une étude de l'Université de Floride, Bray et coll. (1989) ont utilisé une infusion intra-mammaire de 10⁶ UI de pénicilline et 1 g de dihydrostreptomycine trois semaines avant la parturition. La prévalence d'IIM par des agents pathogènes majeurs au vêlage

n'était pas significativement différente entre les deux groupes, mais 91 % (n = 20) des agents pathogènes majeurs furent éliminés par le traitement contre seulement 36.4 % (n = 4) dans le groupe témoin. La faible prévalence (environ 5 %) expliquerait les résultats non significatifs statistiquement.

Oliver et coll. (1992) (Tableau IX) du Tennessee étudièrent 115 taures séparées en un groupe témoin (n = 41) et deux groupes traités 7 jours précédant la date prévue de vêlage. Un premier groupe (n = 38) était traité avec 200 mg de cloxacilline sodique alors qu'un deuxième groupe (n = 36) recevait 200 mg de céphapirine sodique. Le pourcentage de guérison dans le groupe témoin était de 28.5 %, il était de 82.8 % dans le groupe cloxacilline et de 97.0 % dans le groupe céphapirine. Les différences étaient significatives entre le groupe témoin et les groupes traités (P < 0.001).

Tableau VIII. Proportions par quartier d'infections intra-mammaires (IIM) chez des taures laitières primipares durant la période péri-partum suite à un traitement antibiotique intra-mammaire pré-vêlage de cloxacilline (n = 38) et de céphapirine (n = 36) (tiré de Oliver et coll., 1992).

Groupe de traitement	IIM		SCN ¹		Pathogène majeur	
	pré-vêlage (%)	post-vêlage (%)	pré-vêlage (%)	post-vêlage (%)	pré-vêlage (%)	post-vêlage (%)
Témoin	62.2	44.5	53.7	39.0	8.5	5.5
Cloxacilline	50.0	8.6	41.5	6.6	8.6	2.0
Céphapirine	70.1	2.1	63.9	2.1	6.3	0

¹Staphylocoque coagulase négative

Fox et coll (2004) ont réalisé une étude dans sept localisations différentes en utilisant une infusion de céphapirine sodique (Cefa-lak®) 10 à 21 jours précédant la date prévue de vêlage. Les résultats préliminaires indiquent une proportion de guérison environ 2.5 fois supérieure dans le groupe traité tout en ayant la moitié moins de nouvelles IIM au vêlage que dans le groupe témoin. Un effet curatif des IIM présentes au moment du traitement

mais également préventif des nouvelles IIM au moment du vêlage était donc associé au traitement.

Oliver et coll. (1997a) ont traité 40 taures 14 jours précédant la date prévue de vêlage en infusant 200 mg de céphapirine sodique dans les 4 quartiers. La proportion de guérison suite au traitement a été évaluée à 3 et 30 JEL (Tableau X). La prévalence d'IIM était significativement ($P < 0.0001$) plus basse dans le groupe traité par rapport au groupe témoin aux deux périodes post-partum.

Tableau IX. Proportions par quartier d'infections intra-mammaires de taures laitières en période pré-vêlage, à 3 et à 30 jours en lait (JEL) suite à un traitement antibiotique intra-mammaire de céphapirine 14 jours précédant la date prévue de vêlage (tiré de Oliver et coll., 1997a).

Pathogène	14 jours pré-vêlage		3 JEL		30 JEL	
	témoin	traité	témoin	traité	témoin	traité
	%	%	%	%	%	%
SCN ¹	53.7	56.6	48.8	7.2	32.1	4.6
<i>Staph. aureus</i>	4.9	1.3	1.9	0	1.2	0
<i>Streptococcus uberis</i>	4.3	5.3	5.6	0	2.5	0
Strep. Spp.	0	2.0	1.9	0.7	1.2	0
Pathogène majeur	18.5	15.8	11.7	7.9	6.8	3.9
Pathogènes totaux	72.2	72.4	60.5	15.1	38.9	8.6

¹ Staphylocoques coagulase négative

Oliver et coll. (2000 et 2004b) ont séparé 125 taures provenant de deux troupeaux de recherche du Tennessee en trois groupes : 1) taures recevant une infusion de pénicilline/novobiocine dans les 4 quartiers 14 jours pré-vêlage, 2) taures recevant une infusion dans les 4 quartiers de chlorhydrate de pirlimycine 14 jours pré-vêlage et 3) taures ne recevant aucune infusion. Dans le premier troupeau de taures Holstein, 72.7 % des

taures et 34.3 % des quartiers étaient infectés pré-vêlage. Le pourcentage de guérison par quartier suite au traitement pénicilline-novobiocine était de 76 % comparativement à 59 % pour le traitement au chlorhydrate de pirlimycine et 26 % pour les témoins. *Staphylococcus aureus* était responsable de 30 % des IIM dans ce troupeau et 44 % causées par les SCN. Dans le second troupeau de taures Jersey, 95.7 % des taures et 71.3 % des quartiers présentaient une IIM pré-vêlage. Le traitement pénicilline-novobiocine a guéri 75 % des quartiers comparativement à 87 % pour le groupe traité à la pirlimycine chlorhydrate et 56 % pour le groupe témoin. *Staphylococcus aureus* était responsable de 8 % des IIM comparativement à 61 % causées par les SCN, 19 % causées par les streptocoques et 3 % causées par les coliformes. Les proportions de guérison pour les deux traitements étaient significativement plus élevées que le groupe témoin dans les deux troupeaux. Les deux traitements pré-vêlage ont diminué de manière statistiquement significative la prévalence d'IIM au vêlage par rapport au groupe contrôle. Dans cette étude, on observa 5 nouvelles IIM dans les groupes traités par rapport à 3 pour le groupe témoin dans le troupeau Jersey et 10 nouvelles IIM dans le groupe traité et 12 dans le groupe témoin du troupeau Holstein.

Owens et coll. (2001) ont tenté de déterminer la meilleure période pré-vêlage pour traiter les taures aux antibiotiques afin de diminuer la prévalence d'IIM au vêlage. Ils ont séparé 233 taures en classes selon le trimestre de gestation où l'infusion était effectuée en utilisant cinq antibiotiques différents (benzathine céphapirine, pénicilline-novobiocine, pénicilline-streptomycine, tilmicosine et céphalonium). Tous les traitements avaient la même proportion de guérison pour *S. aureus* qui était significativement supérieure à la proportion de guérison des taures du groupe témoin. Aucune différence n'était observée dans la proportion de guérison selon le trimestre de gestation. Par contre, la proportion de nouvelles IIM causées par *S. aureus* était plus élevée durant le dernier tiers de gestation suggérant que le traitement devrait être effectué à cette période puisque moins de nouvelles IIM pourraient se produire suite au traitement.

Une seule étude encore non publiée (Oliver et coll., 2004) a évalué l'effet du traitement antibiotique administré lors de la première traite le jour du vêlage. Soixante-dix-neuf (79) taures Jersey et Holstein ont été séparées en trois groupes : 1) taures ne recevant aucune infusion, 2) taures recevant une infusion de chlorhydrate de pirlimycine dans tous

les quartiers, 3) taures recevant une infusion de pénicilline-novobiocine dans tous les quartiers. Quatre-vingt treize pour-cent (93 %) des taures Jersey et 73.1 % des quartiers étaient infectés lors de la première traite post-partum. Soixante seize pour-cent (76.7 %) des quartiers ont été guéris par le traitement chlorhydrate de pirlimycine par rapport à 61.8 % pour le traitement pénicilline-novobiocine et 39.6 % pour les taures témoins. Cette différence entre les traités et les témoins était statistiquement significative. Quatre-vingt neuf pour-cent (89 %) des taures Holstein et 52.8 % des quartiers étaient infectés lors de la première traite. Cinquante sept pour-cent (57.1 %) des quartiers ont été guéris par le traitement au chlorhydrate de pirlimycine par rapport à 41.4 % pour le traitement à pénicilline-novobiocine et 23.1 % pour les taures témoins. Cette différence entre les traités et les témoins était statistiquement significative pour le traitement à la pirlimycine seulement.

La plupart de ces études estiment que le pourcentage de succès relativement élevé du traitement antibiotique intra-mammaire en période pré-vêlage par rapport à celui obtenu en lactation est dû en partie à la persistance plus longue du produit dans la glande mammaire ainsi qu'au faible volume glandulaire en période pré-vêlage ce qui restreint la colonisation bactérienne à des zones accessibles par l'antibiotique. Ceci permet d'obtenir des concentrations plus élevées d'antibiotique pendant une plus longue période dans une proportion plus grande de la glande mammaire (Trinidad et coll., 1990b). De plus, l'infusion intra-mammaire effectuée à une seule reprise et les pertes de lait, souvent moindres dépendamment du produit utilisé, associées à la présence de résidus d'antibiotique par rapport à un traitement en lactation constituent les autres avantages d'un traitement antibiotique en période pré-vêlage. Par contre, les risques augmentés, suite à une infusion intra-mammaire pré-vêlage, de nouvelles IIM ainsi que la manipulation difficile des taures lors de cette période constituent des inconvénients non négligeables.

10.3 Effet sur la production laitière

Logiquement, une augmentation de la production laitière devrait être présente chez les taures traitées puisque la prévalence d'IIM diminue au vêlage ainsi que le CCS qui est en lien direct avec le degré d'inflammation présent dans le quartier.

Dans l'étude de Fox et coll. (2004), peu d'effet sur la production laitière était noté globalement. Par contre, des variations selon les troupeaux étaient apparentes. Le traitement de céphapirine sodique, 10 à 21 jours pré-vêlage, augmentait la production dans 2 troupeaux alors qu'il la diminuait dans 3 autres troupeaux sur une période de 200 JEL.

Oliver et coll. (2003) ont évalué l'effet d'un traitement antibiotique de céphapirine sodique ou de cloxacilline sodique sur la production laitière de 111 taures traitées 7 ou 14 jours avant le vêlage par rapport à 85 taures non-traitées. La production laitière était significativement plus élevée chez les taures traitées (+531 kg ou 10 %, $P < 0.05$).

Dans une autre étude (Owens et coll., 1991), des taures infectées expérimentalement avec la bactérie *S. aureus* 12 à 14 semaines pré-vêlage et traitées avec de la benzathine céphapirine 1 à 3 semaines plus tard, ont produit 11% plus de lait par jour (16.4 kg par rapport à 14.5 kg) lors de guérison suite au traitement par rapport aux taures demeurées infectées. La période de temps où la production a été mesurée n'était toutefois pas précisée dans cette étude. Trinidad et coll. (1990b) ont également obtenu une augmentation de 10 % (2.5 kg/jour) de la production des taures traitées durant les deux premiers mois de lactation dans 1 des 4 troupeaux de l'étude.

Une augmentation de la production laitière non négligeable jusqu'à 11 % selon les études peut accompagner le traitement antibiotique en période pré-vêlage. Cette augmentation est toutefois variable selon les troupeaux en raison de facteurs non identifiés. C'est l'augmentation de production laitière qui a le plus de poids afin de convaincre les éleveurs du bien fondé et de la rentabilité (voir section 10.6) d'un tel traitement.

10.4 Effet sur le comptage de cellules somatiques

L'effet du traitement antibiotique intra-mammaire pré-vêlage est variable selon les études et l'antibiotique employé. Dans l'étude de Fox et coll. (2004), le CCS n'était pas affecté de manière statistiquement significative par le traitement à base de céphapirine sodique 10 à 21 jours précédant le vêlage mais était tout de même diminué dans la majorité des sept troupeaux sauf dans un cas. Dans les études de Oliver et coll. (2000, 2004b), le pointage linéaire était significativement plus bas chez les taures traitées à l'aide d'un produit à base de pénicilline/novobiocine ou de chlorhydrate de pirlimycine 14 jours pré-vêlage par rapport aux taures témoins (2.04 vs 2.63).

Trinidad et coll. (1990b) ont rapporté une plus grande diminution du CCS lorsque le traitement d'un produit à base de pénicilline / dihydrostreptomycine plus de 60 jours avant la date prévue de vêlage était effectué lors du deuxième trimestre de gestation. L'hypothèse avancée est que la présence d'œstrogène en grande quantité lors du dernier trimestre peut induire une leucocytose dans la glande mammaire des taures et expliquer une baisse moindre du CCS lors d'un traitement antibiotique à cette période malgré une diminution de prévalence d'IIM suite au traitement.

Le traitement antibiotique lors de la première traite post-vêlage semble également avoir un effet statistiquement significatif sur le CCS selon l'antibiotique choisi. En effet, dans la seule étude portant sur le sujet, Oliver et coll. (2004a) ont obtenu une baisse significative du pointage linéaire durant les 90 premiers JEL suite au traitement à la pirlimycine lors de la première traite post-partum mais pas suivant le traitement à la pénicilline-novobiocine.

Dans la majorité des études, une diminution du CCS est donc notée ce qui est probablement causé par la guérison bactériologique observée suite au traitement.

10.5 Résidus dans le lait

La préoccupation majeure lors d'un traitement antibiotique intra-mammaire pré-vêlage est la possibilité de retrouver des résidus suite au vêlage dans le lait des taures traitées ce qui pourrait entraîner la contamination du réservoir à lait et la possibilité d'amendes. La présence de résidus varie selon le produit utilisé, l'intervalle entre le traitement et le vêlage ainsi que selon les individus.

Trois (3) études rapportent des résidus d'antibiotique au vêlage. Dans l'étude de Oliver et coll. (1997a), 3.1 % (4 / 127) des échantillons de lait examinés à 3 JEL étaient positifs pour des résidus d'antibiotique suite à un traitement de 200 mg de céphapirine sodique administré 14 jours avant la date prévue de vêlage. Trois (3) échantillons sur 4 positifs provenaient de taures qui avaient vêlé moins de trois jours suivant le traitement. Dans une autre étude (Trinidad et coll., 1990b), suite à l'administration d'un produit à base de 10^6 UI de pénicilline et 1 g de dihydrostreptomycine plus de 60 jours avant la date prévue de vêlage, 2.9 % (2 taures) des quartiers présentaient des résidus d'antibiotiques au vêlage mais tous étaient négatifs à 5 JEL. Oliver et coll. (1992) rapportent que 17.4 % des quartiers traités 7 jours précédant le vêlage par le produit à base de cloxacilline sodique présentaient des résidus au vêlage mais tous étaient négatifs après 3 JEL. Également, 84.7 % des quartiers traités par le produit à base de céphapirine sodique présentaient des résidus au vêlage, 28.2 % étaient toujours positifs après 3 JEL mais tous étaient négatifs après 10 JEL.

Dans 2 études, aucun résidu d'antibiotique n'a été détecté au vêlage. Premièrement, dans l'étude de Owens et coll. (1991), aucune taure ne présentait de résidu d'antibiotique au moment du vêlage suite à un traitement à la benzathine céphapirine 10 semaines précédemment. Dans la seconde étude, Owens et Ray (1996) n'ont pas détecté de résidu au vêlage suite à un traitement 12 à 14 semaines précédant le vêlage à l'aide soit d'un produit à base de 200 000 UI de pénicilline procaïne G ainsi que 400 mg de novobiocine ou d'un produit à base de 300 mg de céphapirine sodique.

Ces observations doivent donc inciter à la prudence les utilisateurs d'un tel traitement en effectuant des tests de résidus d'antibiotiques avant de mettre le lait d'une taure traitée dans le réservoir. En effet, cette utilisation des antibiotiques intra-mammaires demeure une utilisation en dérogation des directives et la présence de résidus est assez fréquente au vêlage.

10.6 Coûts associés au traitement

Les coûts associés à un traitement antibiotique intra-mammaire en période pré-vêlage sont : le coût du matériel pour la désinfection des trayons, le coût du produit antibiotique, le coût de la main-d'œuvre, le coût des tests de détection des résidus et le coût associés au risque de contamination du réservoir de lait (Fox et coll. 2004). Ces coûts sont relativement stables et évalués à 15.60\$ US (Oliver et coll. 2003) ce qui permet de situer l'augmentation minimale de la production de lait à environ 40 kg au prix actuel américain (0.41 \$/kg) ou à 30 kg au prix actuel canadien (0.67 \$/kg). La rentabilisation de l'investissement du traitement antibiotique intra-mammaire est donc relativement facile à atteindre seulement au niveau de l'augmentation de la production laitière (voir section 10.3) sans même tenir compte de la guérison bactériologique de plusieurs quartiers atteints d'une IIM.

Objectifs de l'étude

Au moment de débiter cette étude, aucune étude canadienne portant sur la mammite chez les taures en période péri-partum n'était disponible. Les données obtenues dans cette étude permettront de mieux connaître la problématique dans les troupeaux de la région de St-Hyacinthe. Ces résultats pourront être utiles afin de faire des inférences pour la situation dans les troupeaux québécois.

De plus, le chlorhydrate de pirlimycine n'avait jamais été évalué dans une étude comme traitement antibiotique en période pré-vêlage chez les taures laitières. Cet état de fait ainsi que son spectre d'action sur les bactéries à Gram positif ont motivé le choix de cet antibiotique dans cette étude. Cependant, au cours des derniers mois, Oliver et coll. (2004b) ont publié des résultats qui incluaient l'utilisation de la pirlimycine. Cette étude est décrite dans la section recension de la littérature.

Finalement, les objectifs de cette étude étaient d'évaluer l'efficacité d'un traitement antibiotique intra-mammaire pré-vêlage à base de pirlimycine sur la diminution des proportions des taures présentant une IIM en début de lactation ainsi que l'effet du traitement sur la production laitière et le CCS durant la première lactation.

Méthodologie

Sélection des sujets et des troupeaux

On avait calculé que la proportion d'IIM était de 14.4 % dans le premier mois post-partum chez des taures suivies dans 21 troupeaux de la Faculté de Médecine Vétérinaire. La proportion d'infection par la bactérie *S. aureus* était de 7.7 % (Tableau II). La taille de l'échantillonnage a été calculé en utilisant ces données et en présumant les hypothèses suivantes (Win episcopie 2.0) : proportion d'IIM présente au vêlage suite au traitement égale à 8.0 % et proportion de taures infectées par *S. aureus* au vêlage suite au traitement égale à 3.0 %. On désirait avoir un niveau de confiance de 95 % et une puissance de 80 % pour les analyses. Un total de 299 taures par groupe de traitement était nécessaire pour les analyses sur la proportion d'IIM alors qu'un total de 282 taures était nécessaire pour les analyses sur la proportion de *S. aureus*. En estimant les pertes au suivi à 10 % des taures, l'échantillon devait comporter 660 taures au total. Ce nombre n'a pu être atteint mais 575 taures ont été recrutées pour l'étude. Un certain nombre de taures n'ont pu être inclus en raison d'un vêlage trop hâtif. Finalement, un total de 428 taures laitières primipares provenant de 23 troupeaux laitiers de la région de St-Hyacinthe (échantillon de convenance) inscrits au contrôle laitier du programme d'amélioration des troupeaux laitiers du Québec (PATLQ) pour le suivi du CCS et de la production laitière ont été incluses dans l'étude de 6 à 12 jours précédant la date prévue de vêlage. Un minimum de 8 taures gravides par troupeau était requis sur une période de 12 mois (juin 2002 - juin 2003) ce qui n'était possible que dans des troupeaux de plus de 30 vaches en lactation. Les taures ne devaient pas avoir reçu d'antibiotique durant les 3 derniers mois et ne jamais avoir été traitées pour une mammite auparavant. Les taures étaient retirées pour certaines analyses statistiques si elles recevaient un traitement antibiotique entre les prises d'échantillons pré-vêlage et post-vêlage.

Groupe de traitement

Les taures étaient assignées de façon systématique en alternance par ordre chronologique de date de vêlage prévue à l'intérieur d'un même troupeau à l'un des deux groupes de traitement suivants : 1) les taures (n = 209) du groupe témoin ne recevaient aucune infusion intra-mammaire, 2) les taures (n = 219) du groupe traité recevaient une infusion intra-mammaire de 50 mg d'hydrochloride de pirlimycine (Pirsue, Pharmacia santé animale, Orangeville, ON) dans les 4 quartiers de 6 à 12 jours précédant la date prévue de vêlage.

La formation d'un groupe témoin placebo a été envisagée mais les risques de NIIM étant toujours présents lors d'une infusion intra-mammaire, il a été décidé de ne pas faire un tel groupe. En effet, la procédure comportant certains risques, elle ne pouvait être proposée dans un contexte d'utilisation de taures provenant de troupeaux à vocation commerciale.

Récolte des échantillons et traitement

Deux séries d'échantillons des sécrétions mammaires de chacun des quartiers étaient récoltés de façon stérile chez toutes les taures à l'étude. De 2 à 3 visites à la ferme pour chacune des taures étaient effectuées. Une première visite avait lieu de 6 à 12 jours précédant la date prévue de vêlage et une seconde de 2 à 8 jours suivant le vêlage. Une troisième visite (n = 16) était effectuée de 16 à 22 jours suivant le vêlage si une guérison bactériologique d'une IIM causé par *S. aureus* était notée lors de la première visite post-vêlage.

À chaque visite un test californien de détection de la mammite (CMT) était effectué sur les sécrétions de chacun des quartiers et les résultats inscrits au dossier de l'animal. Les trayons étaient par la suite désinfectés à l'aide de tampons imbibés d'alcool 70% afin de récolter, dans un tube stérile, deux échantillons par quartier lorsque la quantité de sécrétion

le permettait. Lors de la visite pré-vêlage, si la taure faisait partie du groupe traité, les trayons étaient désinfectés une seconde fois et une dose de 50 mg d'hydrochloride de pirlimycine était administrée dans chacun des quartiers à l'aide de la canule courte du tube. Le bain de trayon utilisé à la ferme était ensuite appliqué quotidiennement pour une période de trois jours. Les échantillons de lait étaient ensuite déposés dans un réfrigérateur ou sur la glace pour être ensuite congelés dans les 12 heures suivantes. Le premier échantillon était envoyé pour une analyse bactériologique et le second conservé congelé et analysé si l'échantillon initial s'avérait contaminé.

La récolte des échantillons ainsi que le traitement n'était pas effectué selon une méthode à l'aveugle.

Analyse des échantillons

L'analyse bactériologique des échantillons était effectuée par une méthode simple à l'aveugle puisque le personnel du laboratoire ne connaissait pas le groupe de provenance des taures (traité ou contrôle). Les échantillons étaient envoyés congelés une fois par semaine au laboratoire de bactériologie clinique de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal et décongelés soit en les laissant une nuit au réfrigérateur ou en les plongeant environ 30 minutes dans un bain d'eau froide avant leur ensemencement. L'ensemencement des échantillons provenant de chacun des quartiers était fait sur des quarts de gélose « trypticase soy » supplémentée avec 5 % de sang de mouton (TSA) (BBL, Becton Dickinson and Company, Cockeysville, MD, USA) à l'aide d'un écouvillon déposant environ 8 µL de lait sur la gélose. De plus, 1 mL de lait était mis dans 5 mL d'un bouillon d'enrichissement BHI (brain heart infusion) (Difco, Detroit, MI, USA) et les tubes étaient incubés durant 6 heures à 35 °C. Ce bouillon était par la suite ensemencé à l'aide d'un écouvillon sur des demi-géloses TSA au sang. Toutes les géloses étaient incubées durant 24 heures à 35°C dans une atmosphère enrichie de 5 % CO₂. Après cette période d'incubation, on procédait à un premier examen des géloses. Un comptage des colonies

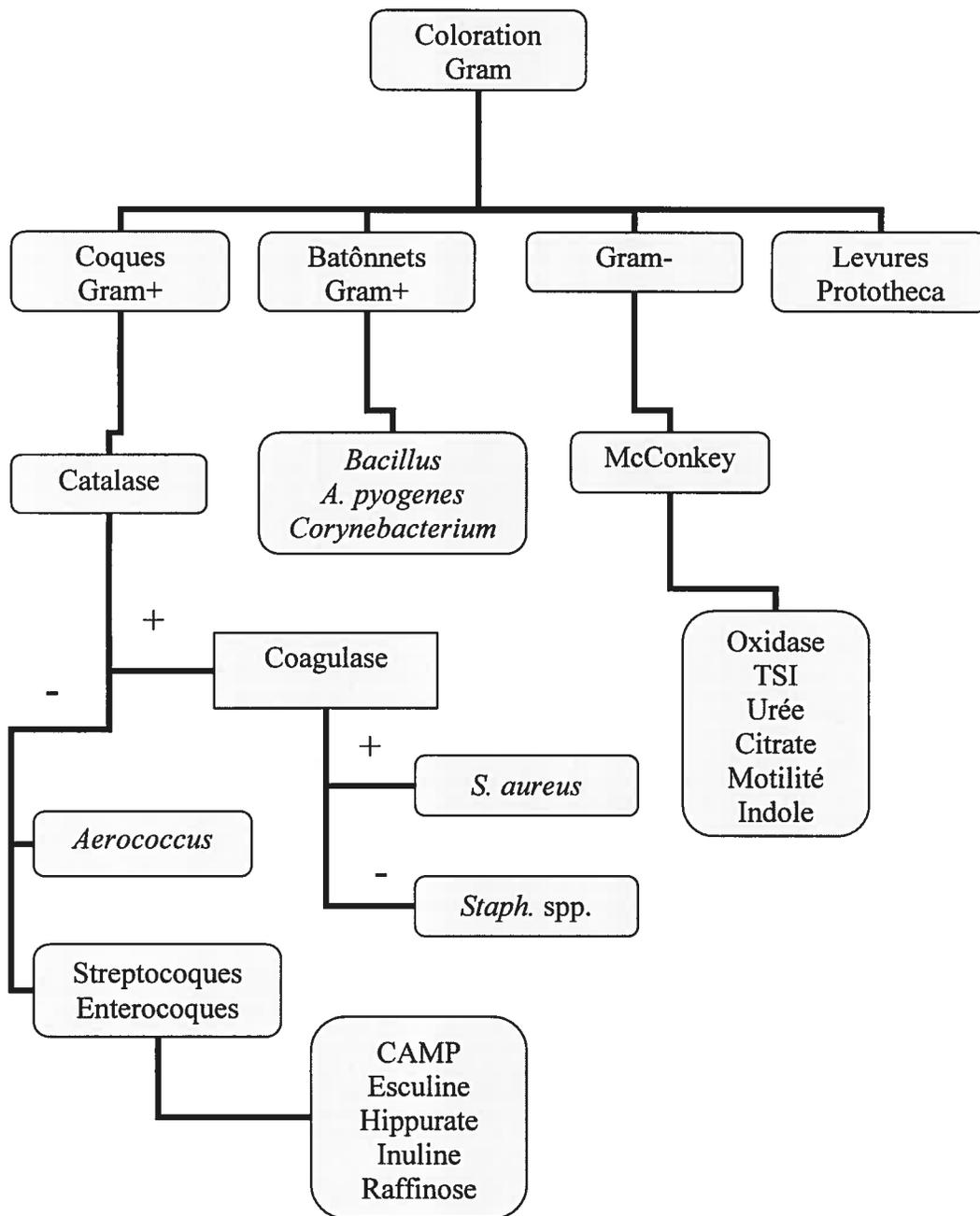
était effectué ainsi que les tests d'identification appropriés (Figure 1). Une deuxième lecture était faite 24 heures plus tard.

Sur les différents isolats à identifier, une coloration de Gram était effectuée pour examen de la morphologie microscopique. Les coques à Gram positif étaient soumises à un test de catalase. Les coques catalase-positives étaient identifiées ensuite par un test de coagulase et de Dnase au besoin. Les coques catalase-négatives autres que *Aerococcus* étaient soumises aux tests d'identification des streptocoques soit : réaction de CAMP, hydrolyse de l'esculine, hydrolyse de l'hippurate, acidification de l'inuline et du raffinose¹⁵. Une identification à l'aide d'une galerie API20S (BioMérieux, Marcy L'Étoile, France) était effectuée dans les cas douteux. Les bâtonnets à Gram positif étaient classés selon leur apparence microscopique et le résultat du test de la catalase. Les bactéries à Gram négatif étaient repiquées sur une gélose McConkey (Difco) et étaient identifiées à l'aide des tests suivants: test d'oxidase, TSI, urée, citrate, indole et mobilité. Les autres bactéries ou levures étaient identifiées selon leur apparence à la coloration de Gram.

Les résultats bactériologiques n'étaient pas divulgués aux producteurs participants avant le vêlage mais étaient disponibles généralement au moment de la première visite post-vêlage.

Une analyse des résidus d'antibiotique dans le lait de 20 taures provenant de 13 troupeaux différents dont l'échantillon a été récolté 2 jours post-vêlage a été effectuée à l'aide du test Delvotest P/SP (DSM Food Specialties Dairy Ingredients, Menomonee Falls, WI).

Figure 1 : Procédures diagnostiques utilisées au Laboratoire de bactériologie de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal pour la culture bactériologique du lait.



Définitions

Un quartier était considéré comme infecté sur la base des critères suivants :

- 1- présence de ≥ 100 cfu/mL en culture pure ou mixte de *S. aureus*,
- 2- présence de >100 cfu/mL en culture pure ou de ≥ 1000 cfu/mL en culture mixte d'un pathogène majeur autre que *S. aureus*,
- 3- présence de ≥ 1000 cfu/mL en culture pure ou de ≥ 2000 cfu/mL en culture mixte d'un agent pathogène mineur.

Les agents isolés et considérés comme des agents pathogènes majeurs étaient :

S. aureus, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Salmonella* spp, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp, *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella* spp, levures et coliformes.

Les agents isolés et considérés comme des agents pathogènes mineurs étaient : SCN, *Streptococcus* spp, *Corynebacterium* spp, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus* spp, *Acinetobacter*, *Enterococcus* et *Proteus* spp. Un échantillon était considéré contaminé si trois bactéries et plus étaient présentes en culture primaire. Une taure était considérée infectée lorsque au moins un de ses quartiers était infecté. Une taure était considérée saine lorsque les 4 quartiers étaient sains.

Une guérison bactériologique était considérée lorsque la culture post-vêlage était négative pour la bactérie isolée lors de l'échantillonnage pré-vêlage sauf pour la bactérie *S. aureus* pour laquelle 2 cultures post-vêlage négatives étaient nécessaires.

Pour le calcul des proportions de taures ou de quartiers infectés, les différentes bactéries ont été regroupées selon les classes suivantes : 1) *S. aureus*, 2) Streptocoques (*S. dysgalactiae* et *S. uberis*), 3) SCN (*Staphylococcus* spp et *Staphylococcus hyicus*), 4) Autres bactéries à Gram positif (*Streptococcus* spp, *A. pyogenes*, *Bacillus* spp, *Corynebacterium* spp, *Enterococcus* spp, *Aerococcus* spp), 5) Bactéries à Gram positif totales (*S. aureus*, SCN, streptocoques et autres bactéries à Gram positif), 6) Bactéries à

Gram négatif et levures (*Klebsiella* spp, *Salmonella* spp, *Pseudomonas*, *Proteus* spp, levures et coliformes), 7) IIM totales (bactéries à Gram positif totales, bactéries à Gram négatif et levures).

Le pourcentage de guérison est défini comme étant : (nombre de quartiers guéris post-vêlage / nombre de quartiers infectés pré-vêlage)*100. Tandis que le pourcentage de nouvelles infections intra-mammaires est défini comme : (le nombre de quartiers infectés post-vêlage/ nombre de quartiers sains pré-vêlage)*100.

Analyses statistiques

Le logiciel SAS v. 8.02 (Cary, N. C.) a été utilisé pour toutes les analyses. Un seuil alpha inférieur ou égal à 0.05 a été utilisé pour toute les analyses.

a) Proportion d'IIM, de guérison et de NIIM .

Un modèle de régression logistique a été utilisé avec la méthodologie des équations d'estimation généralisée appliquée aux résultats de proportion après traitement prenant en ligne de compte les résultats de proportion avant traitement. Le modèle utilise la loi binomiale, le lien logit et la matrice de corrélation de travail échangeable. Le modèle s'applique aux variables dépendantes dichotomiques, telles la présence bactérienne, lorsque l'une des variables indépendantes est un facteur répété (quartier). Selon le type de bactéries ou la classe de bactéries, il n'a pas toujours été possible d'analyser la proportion après traitement compte tenu de la faible taille d'échantillon. Dans tous les cas, il n'a pas été possible de considérer l'effet ferme. Pour certaines analyses, les taures ont été regroupées en deux classes selon l'intervalle entre la visite pré-vêlage et le vêlage (IPRÉ) soit un IPRÉ ≤ 7 jours ou > 7 jours. Les modèles pouvaient inclure l'effet du traitement, de l'intervalle de temps en classe et l'interaction entre ces deux facteurs comme variables indépendantes. Le quartier était considéré comme facteur répété à l'intérieur du sujet. Quelques uns de ces facteurs n'ont pu être analysés en raison de la petite taille d'échantillon. Des contrastes a priori ont été utilisés pour comparer les différents niveaux des variables catégoriques

comme par exemple dans le cas de la variable IPRE, en considérant un des niveau comme le niveau de référence. L'exponentiation de la base népérienne avec la valeur des estimés du modèle provenant de ces contrastes permettaient d'obtenir les rapports de cote (Procédure Genmod).

$$\log (P_{ij}/(1 + P_{ij})) = \alpha_i + \beta_1 \text{IPRE}_{ij} + \beta_2 \text{traitement}_{ij} + \beta_3 \text{IPRE}_{ij} * \text{traitement}_{ij} + \beta_4 \text{quartier}_{ij}$$

où $i =$ vache 1 à n , $j =$ quartier 1 à 4, P_{ij} = probabilité de l'évènement dans le quartier j pour l'individu i , α_i = effet aléatoire associé à la vache i et les β = facteurs à effet fixe associés au traitement, à l'IPRE ou au quartier.

Pour les analyses de la proportion d'IIM, 59 taures ont été retirées. Trente (30) taures ont été retirées en période pré-vêlage en raison de données manquantes dans au moins un quartier (12 témoins et 18 traitées). Vingt-neuf (29) taures additionnelles ont été retirées en période post-partum (24 témoins et 5 traitées). De ce nombre, 3 ont été retirées en raison d'une mauvaise conservation des échantillons (2 témoins et 1 traitée), 4 ont été retirées parce que le moment de l'échantillonnage post-partum dépassait 14 JEL (2 témoins et 2 traitées) et les 22 autres taures furent retirées en raison de l'utilisation par le producteur d'un antibiotique sans récolte du premier échantillon post-partum au préalable (21 témoins et 1 traitée).

Pour les analyses par quartier de la proportion d'IIM, de guérison et de NIIM, 192 quartiers ont été retirés. Trente-trois (33) quartiers ont été retirés en période pré-vêlage en raison de données manquantes alors que 159 quartiers additionnels ont été retirés post-vêlage (108 témoins et 51 traités) pour les mêmes raisons que mentionnées ci-haut. Les taures retirées de l'étude pour d'autres raisons que les données manquantes sont énumérées à l'annexe I.

b) CCS et L2S.

Un modèle linéaire mixte a été utilisé, avec la ferme traitée en facteur aléatoire et le temps comme facteur répété, incluant le traitement, l'intervalle de temps en classe et l'interaction entre ces deux facteurs comme variables indépendantes (Procédure Mixed).

$$CCS_{ijk} = \alpha_i + \text{Ferme}_j + \beta_1 \text{IPRÉ}_{ijk} + \beta_2 \text{traitement}_{ijk} + \beta_3 \text{temps}_{ijk} + \beta_4 \text{traitement}_{ijk} * \text{temps}_{ijk} + \beta_5 \text{IPRÉ}_{ijk} * \text{traitement}_{ijk}$$

où i = vache 1 à n , j = ferme 1 à m , k = temps 1 ou 2, CCS_{ijk} = comptage de cellules somatiques de l'individu i de la ferme j au temps k , α_i = effet aléatoire associé à la vache i , Ferme_j = effet aléatoire associé à la ferme j et les β = facteurs à effet fixe associés au traitement, à l'intervalle de temps ou au moment du contrôle laitier.

c) Production laitière.

Les analyses pour la production laitière ont été faites sur la production estimée à 305 jours pour les taures ayant au moins 3 pesées de lait. Les taures ne respectant pas les critères suivants étaient exclues pour ces analyses : 1) un contrôle laitier était considéré comme un premier contrôle si il était effectué <60 jours en lait (JEL); 2) le deuxième contrôle d'un animal devait être effectué < 100 JEL; 3) de plus, un contrôle effectué entre 60 et 100 JEL était considéré comme un deuxième contrôle en l'absence d'un contrôle laitier antérieur; 4) le troisième contrôle devait être effectué < 150 JEL; 5) également, un contrôle effectué entre 100 et 150 JEL était considéré comme un troisième contrôle en l'absence d'un ou des deux contrôles antérieurs. Un modèle linéaire mixte a été utilisé, avec la ferme traitée en facteur aléatoire, incluant le traitement, l'intervalle de temps en classe et l'interaction entre ces deux facteurs comme variables indépendantes (Procédure Mixed).

$$\text{Production laitière}_{ij} = \alpha_j + \beta_1 \text{IPRÉ}_{ij} + \beta_2 \text{traitement}_{ij} + \beta_3 \text{IPRÉ}_{ij} * \text{traitement}_{ij}$$

où i = vache 1 à n , j = ferme 1 à m , $\text{production laitière}_{ij}$ = production laitière de l'individu i dans la ferme j , α_j = effet aléatoire associé à la ferme j et les β = facteurs à effet fixe associés au traitement et à l'intervalle de temps.

Cent trois (103) taures ont été retirées de l'étude pour les analyses sur l'effet du traitement sur la production laitière, le CCS et le L2S. De ce nombre, 73 taures ont été retirées en raison de données manquantes du contrôle laitier (38 témoins et 35 traitées). Les

30 autres taures ont été retirées en raison de l'utilisation d'un antibiotique sans récolte du premier échantillon post-partum au préalable (19 témoins et 11 traitées).

Article

Effect of pirlimycin treatment in heifers, Roy, A study was conducted to determine whether prepartum pirlimycin treatment was effective in reducing intramammary infections (IMI) in heifers post-calving. IMI was detected in 69.1 % of heifers prepartum. Precalving treatment with pirlimycin significantly lowered IMI post-calving (70.6 % to 31.3 %). Antibiotic treatment had a significant effect on cure proportion and on prevention of new IMI at calving compared to no treatment when all Gram-positive pathogens were grouped. An increase in milk production was observed when treatment was administered precalving. Prepartum infusion of pirlimycin was effective in reducing proportion of IMI and increasing milk production.

PRECALVING INTRAMAMMARY TREATMENT OF HEIFERS

Efficacy of Intramammary Pirlimycin as a Precalving Antibiotic Treatment for Nulliparous Heifers

J.-P. Roy,¹ D. Du Tremblay,² L. DesCôteaux,¹ S. Messier,³ É. Bouchard¹

¹Département de Sciences Cliniques and

²Research assistant and

³Département de pathologie et microbiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec, Canada, C.P. 5000, J2S 7C6

Jean-Philippe Roy, Faculté de médecine Vétérinaire, 3200 rue Sicotte, St-Hyacinthe, Québec, Canada, C.P. 5000, J2S 7C6, phone number : (450) 773-8521 ext. 8467, fax number : (450) 778-8120, e-mail : [REDACTED]

ABSTRACT

A study was conducted to determine whether prepartum antibiotic treatment of pirlimycin is effective in reducing intramammary infections (IMI) during early lactation and improving milk production. A total of 428 heifers were systematically allocated to treatment and control groups. Duplicate milk samples from each quarter were collected from all heifers between 6 and 12 days before the expected calving dates and between 2 and 8 days after calving. On the prepartum visit, heifers from the treatment group (n = 219) received an infusion of pirlimycin in all 4 quarters and for the control group received no infusions (n = 209). IMI was detected in 69.1 % of heifers and 32.6 % of quarters during the prepartum period and these proportions were similar in both groups. After calving, IMI proportion was significantly lower in treated heifers (31.3 %) than in control heifers (44.6 %). In prepartum samples, *Staphylococcus aureus* was isolated from 10.3 % of heifers and from 3.2 % of quarters. After calving, *S. aureus* proportion was significantly lower in treated heifers (5.6 %) than in control heifers (10.4 %). Antibiotic treatment had a significant effect on cure proportion and on prevention of new IMI at calving by all Gram-positive pathogens combined, compared to no treatment. The interval between time of treatment and calving significantly modified the effect of treatment on milk production. An increase of 365 kg of milk was observed when antibiotic treatment was applied more than 1 week before calving. Prepartum intramammary antibiotic infusion of pirlimycin in heifers was an effective procedure in reducing proportion of IMI at parturition and for increasing milk production when treatment was administered more than 1 week prior to calving.

(Key words : heifer, mastitis, antibiotic treatment, precalving)

Abbreviation key: CNS = coagulase negative staphylococci, IMI = intramammary infection, NIMI = new intramammary infection, OR = odds ratio, PREI = interval between precalving visit and calving, P305 = milk production estimated at 305 days in milk.

INTRODUCTION

Before the study by Oliver and Mitchell (1983), in which they reported a high proportion of intramammary infection (IMI) in heifers during the precalving period as well as at the onset of lactation, mastitis was a poorly recognized entity in heifers. Since, several others have reported similar IMI proportions, reaching up to 97 % in heifers infected at calving (Pankey et al., 1991; Fox et al., 1995; Owens et al., 2001). Proportions of IMI in unseminated and gravid heifers are as high as those recorded at calving, which indicates that infection occurs several weeks or months prior to calving (Trinidad et al., 1990a; Oliver et al., 1992; Fox et al., 1995). All of these studies indicate that IMI in heifers during the peripartum period are frequent.

These IMI occur at a critical moment in the mammary development of heifers, causing a decrease in the quantity of glandular tissue with the potential to reduce milk production during subsequent lactations (Nickerson et al., 1995). Infected heifers produce less milk during their first lactation (Boddie et al., 1987; Myllys and Rautala, 1995); their SCC is also increased (Boddie et al., 1987; Trinidad et al., 1990a; Hallberg et al., 1995) and many IMI may persist for an extended period (Boddie et al., 1987; Daniel et al., 1987; Oliver et al., 1997b).

Some methods have been considered to prevent and control IMI. Use of a teat dip in the precalving period (Schultze, 1985; Matthews et al., 1988; Edinger et al., 2000) and vaccinating heifers against *Staphylococcus aureus* (Nordhaug et al., 1994; Tenhagen et al., 2001) are two approaches that have not produced conclusive results. The most promising approach is the use of intramammary short or long-action antibiotics in the precalving period. The cure proportions obtained for intramammary antibiotic treatment are significantly greater than those for untreated heifers, and this is true even in the case of *S. aureus* infection (Oliver et al., 1992; Owens et Ray, 1996; Oliver et al., 1997a; Owens et al., 2001; Oliver et al., 2004). Use of antibiotics in the precalving period increases milk production (Trinidad et al., 1990b; Owens et al., 1991; Oliver et al., 2003) and decreases the somatic cell count (SCC) in treated heifers (Trinidad et al., 1990b; Oliver et al., 2004).

The objectives of this study were to evaluate the effectiveness of an intramammary antibiotic treatment of pirlimycin in the precalving period on the proportion of IMI in heifers at the onset of lactation as well as on milk production and SCC during their first lactation.

MATERIALS AND METHODS

Herds and heifers selection. A total of 428 primiparous dairy heifers from 23 dairy herds in the St. Hyacinthe region (haphazard sample) registered in the PATLQ dairy register for follow-up on SCC and milk production were included, the study beginning 6 to 12 days preceding the expected calving date. A minimum of 8 gravid heifers per herd were required over a period of 12 months (June 2002 to June 2003.) The heifers could not have received an antibiotic during the previous three months and could not have been treated for a previous episode of mastitis. Heifers were withdrawn for various analyses if they had received an antibiotic between the precalving and post-calving samples.

Treated group. Heifers were assigned in a systematic, alternating order according to the chronological expected calving date within the same herd. Heifers were assigned to one of the two following treatment groups: 1) control group (n = 209) did not receive any intramammary antibiotic infusion; 2) treated group (n = 219) received an intramammary infusion of 50 mg of pirlimycin hydrochloride (Pirsue, Pharmacia animal health, Orangeville, ON) in all four quarters between 6 and 12 days preceding the expected calving date.

Collection of samples and treatment. Two series of samples of mammary secretions from each of the quarters were taken in a sterile manner from all heifers included in the study. Two or three farm visits were made for each of the heifers. The first visit was between 6 and 12 days before the expected calving date and a second between 2 and 8 days following calving. A third visit (n = 16) was made between 16 and 22 days following calving if a

bacteriological cure of IMI caused by *S. aureus* was observed on the first post-calving culture.

At each visit, a California mastitis test (CMT) was performed and the results were registered in the animal's individual record. For sampling, the teats were disinfected using gauze soaked in a 70% alcohol solution in order to take two samples per quarter when the quantity of secretions was sufficient. At the precalving visit, if the heifer was included in the treatment group, the teats were disinfected a second time and a dose of 50 mg of pirlimycin hydrochloride was administered in each of the quarters using the short canula on the tube. The teat dip used on the farm was applied daily for three days afterward. The milk samples were kept cool for transportation and frozen within 12 hours. The first sample was sent for bacteriological analysis and the second was conserved and analyzed if the initial sample turned out to be contaminated.

Bacteriological analysis of the samples. The frozen samples were sent on a weekly basis to the clinical bacteriology laboratory of the Faculté de médecine vétérinaire of the Université de Montréal and were thawed either by leaving them overnight in the refrigerator or by placing them for 30 minutes in a water bath before inoculation. Samples from each of the quarters were plated onto one quadrant of a trypticase soy agar plate enriched with 5 % sheep's blood (TSA) (BBL, Becton Dickinson and Company, Cockeysville, MD, USA). Milk was streaked on the agar medium with a swab. As well, 1 mL of milk was put into 5 mL of a BHI (brain heart infusion) enrichment broth (Difco, Detroit, MI, USA) and the tubes were incubated for six hours at 35°C. The broth was then plated onto TSA halves. All of the plates were incubated for 24 hours at 35 °C in an atmosphere enriched with 5 % CO₂. After the incubation period, the agar media were examined. The colonies were counted and the appropriate identification tests performed. A second reading was made 24 hours later.

On the isolates selected for identification, a Gram's stain was performed to examine morphology under the microscope. Gram-positive cocci were submitted to a catalase test. Catalase-positive cocci were identified using a coagulase test and a DNase test if necessary. Catalase-negative cocci other than *Aerococcus* were submitted to streptococcus identification tests : CAMP reaction, esculine hydrolysis, hippurate hydrolysis, inulin and

raffinose fermentation (Fortin et al., 2003). Identification using a API20S assay (BioMérieux, Marcy L'Étoile, France) was used in cases where doubt remained. Gram-positive bacilli were classified according to their microscopic morphology and the results of the catalase test. Gram-negative bacilli were re-inoculated onto a McConkey agar (Difco) and identified using the following tests: oxydase, TSI, urea, citrate, indole and mobility. The other bacteria or yeast were identified according to morphology with the Gram's stain.

Analysis of antibiotic residues in the milk of the first 20 heifers whose samples were collected two days post-calving was performed using Delvotest P/SP (DSM Food Specialties Dairy Ingredients, Menomonee Falls, WI). Those heifers were coming from 13 different herds.

Definitions. A quarter was considered infected on the basis of the following criteria:

- 1- *S. aureus* \geq 100 cfu/mL in pure or mixed culture;
- 2- Major pathogens other than *S. aureus* $>$ 100 cfu/mL in pure culture or \geq 1000 cfu/mL in mixed culture;
- 3- Minor pathogen \geq 1000 cfu/mL in pure culture or \geq 2000 cfu/mL in mixed culture.

Isolated agents considered to be major pathogens were *S. aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Salmonella* spp, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp, *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella* spp, yeast and coliforms. Isolated agents considered to be minor pathogens were: coagulase-negative staphylococci (CNS), *Streptococcus* spp, *Corynebacterium* spp, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus* spp, *Acinetobacter*, *Enterococcus* and *Proteus* spp. A sample was considered contaminated if three or more bacteria were present in the primary culture. A heifer was considered infected if a minimum of one of its quarters was infected and was considered non infected if all 4 quarters were non infected. A bacteriological cure was considered when the post-calving sample was negative for the bacteria that were isolated in the precalving sample, except for *S. aureus* where two negative post-calving cultures were required.

To calculate proportions of infection, the bacterial species were classified in the following manner: 1) *S. aureus*; 2) Streptococci (*S. dysgalactiae* and *S. uberis*); 3) CNS (*Staphylococcus* spp and *Staphylococcus hyicus*); 4) Other Gram-positive bacteria (*Streptococcus* spp, *A. pyogenes*, *Bacillus* spp, *Corynebacterium* spp, *Enterococcus* spp, *Aerococcus* spp); 5) Total Gram-positive bacteria (*S. aureus*, CNS, Streptococci and other Gram-positive bacteria); 6) Gram-negative bacteria and yeast (coliforms, *Klebsiella* spp, *Salmonella* spp, *Pseudomonas*, *Proteus* spp, yeast); 7) Total IMI (total Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and yeast). Gram-negative bacteria and yeast were combined for analyse because those pathogens are not affected by pirlimycin treatment and could be introduced during manipulations. Also, proportion of yeast infection was very low.

Proportion cure was defined as (number of cured quarters post-calving/ number of infected quarters precalving)*100. Whereas the proportion of new intramammary infection (% NIMI) was defined as (number of infected quarters post-calving / number of healthy quarters precalving)*100.

Statistical analysis. SAS software v. 8.02 (Cary, N. C.) was used for all analysis. All analysis were considered statistically significant at $P \leq 0.05$.

a) Proportion of IMI, cure and NIMI: A logistic regression model using general estimating equations was employed to model occurrence after treatment as a function of occurrence prior to treatment (Genmod). The model used a binomial error distribution, logit link function and exchangeable covariance structure. Depending on the bacteria or classes of bacteria, it was not always possible to analyze proportion after treatment due to small sample size. For some analyses, heifers were classified in two groups according to the interval between the precalving visit and calving ($PREI \leq 7$ days or > 7 days). Models could include treatment, time interval class and interactions between treatment and time interval class as independent variables. Quarter was treated as a repeated factor. Some of the variables could not always be tested when sample size was small. Farm could not be included in the model because proportion of IMI was too low in some farms to perform analysis. Exponentiating the resulting contrast estimates provided odds ratios.

Fifty-nine (59) heifers were not included to calculate the heifer proportion of IMI. Thirty (30) heifers were removed precalving because of missing data in at least one quarter (12 control and 18 treated). An additional 29 heifers were removed post-calving (24 control and 5 treated) : 3 because of inadequate sample conservation (2 control and 1 treated), 4 because sample were obtained more than 14 days post-calving (2 control and 2 treated) and 22 because of the use of antibiotics before the post-partum sampling (21 control and 1 treated).

One hundred and ninety-two (192) quarters were not included to calculate the quarter proportion of IMI, the proportion of cured quarters and the proportion of NIMI. Thirty-three (33) quarters were removed precalving because of missing data and an additional 159 quarters were removed post-calving (108 control and 51 treated) for the same reasons as mentioned above.

b) Somatic cell counts (SCC) and linear score (L2S) : A mixed linear model was used, with farm treated as a random factor and measurement time as a repeated factor, including treatment, time interval class, measurement time and interactions between treatment and time interval class and between treatment and measurement time as independent variables (Mixed procedure).

c) Analyses of milk production were made on 305 day estimated production for heifers having at least three DHI tests. Tests results were classified as follow : 1) first milk recording performed before 60 days in milk (DIM); 2) the second milk recording performed before 100 DIM (a recording performed between 60 and 100 DIM was considered to be a second recording in the absence of a previous milk recording); 3) the third milk recording performed before 150 DIM (a recording made between 100 and 150 DIM was considered to be a third recording in the absence of one or two previous recordings). A mixed linear model was used, with farm treated as a random factor, including treatment, time interval class and the interaction between treatment and time interval class as independent variables (Mixed procedure).

One hundred and three (103) heifers were not included in the analysis on milk production, SCC and L2S. Of these, 73 heifers were removed because of missing DHI test (38 control and 35 treated). The remaining (30), came from 21 different herds, were removed because of the use of antibiotics before the post-partum sampling (19 control and 11 treated).

RESULTS AND DISCUSSION

General Descriptive Statistics

A total of 428 heifers from 23 herds were included in this study. The PREI as well as the interval between calving and the post-calving visit were similar for the two groups (Table 1).

Proportion of Intramammary Infections in the Precalving Period

Proportions of IMI prior to calving were 32.6 % for quarters and 69.1 % for the heifers (Table 2). The class of bacteria most frequently isolated was CNS (59.3 %). *S. aureus* was isolated in 10.3 % of heifers, whereas *S. dysgalactiae* and *S. uberis* were present in 3.5 % of subjects. Gram-negative bacteria and yeast were less frequently encountered (4 %). The proportion of IMI in both groups was not significantly different in the precalving period for all categories of bacteria ($P > 0.05$).

Many authors have reported that in primiparous heifers, IMI proportions in the precalving period are between 24 % and 75 % (Trinidad et al., 1990a; Oliver et al., 1992; Fox et al., 1995). Our results indicate a relatively high proportion of IMI, similar to that of the studies of Trinidad et al. (1990a), Oliver et al. (1992) and Owens and Ray (1996), in spite of the fact that our study took place in a region located much further north than the three previous studies. In fact, season as well as hot and humid temperatures is a risk factor reported for IMI (Waage et al., 1998 and 1999; Jonsson et al., 1991).

The proportion of *S. aureus* in our study is within the limits (0.2 % and 14.9 %) reported in the literature (Trinidad et al., 1990a; Matthews et al., 1992; Fox et al., 1995). CNS bacteria were the most frequently encountered agents in our study, as was the case in the cited studies of mastitis in heifers.

Proportion of Intramammary Infections in the Post-calving Period

The apparent decrease of total IMI in the control group following calving was 33.9 % in heifers and 46.4 % for infected quarters (Table 2). In the treated group, the decrease was 55.7 % of infected heifers and 63.2 % of infected quarters.

For the control group, the proportion of total IMI was 44.6 % of heifers and 17.1 % of quarters in the post-calving period (Table 2.) For the treated group, the proportion of total IMI was 31.3 % for heifers and 12.3 % for quarters following calving. The proportion of heifers positive for *S. aureus* in the control group did not change appreciably in the post-calving period (10.4 %) compared to the precalving period (10.2 %). However, this proportion decreased in heifers for the treated group, going down from 10.4 % in the precalving period to 5.6 % post-calving. A decrease in the proportion of all other classes of Gram-positive bacteria occurred in the two groups following calving but this decrease was always greater in heifers of the treated group. The proportion of heifers infected with Gram-negative bacteria and yeast decreased in the control group but increased in the treated group, going up from 4.0 % to 6.6 % in the latter group.

The proportion of total IMI decreased significantly ($P < 0.001$) in both groups after calving (Table 3) and we observed a significant effect of treatment ($P = 0.009$). This effect was reflected by an interaction between treatment and the sampling period (precalving or post-calving). In fact, the odds ratio for the presence of IMI was similar in both groups in the precalving period (OR = 1.14, 95 % CI = 0.87 – 1.49) but was lower in the treated group (OR = 0.69, 95 % CI = 0.48 – 0.98) in the post-calving period. Treatment significantly decreased the proportion of total IMI following calving compared to the control group.

A significant difference between treated and control groups for the proportion of IMI due to *S. aureus* was found ($P = 0.04$) (Table 3). The risk of the bacteria being present in both groups was similar in the precalving period (OR = 0.98, 95 % CI = 0.49 – 1.96) but lower in the treated group (OR = 0.51, 95 % CI = 0.24 – 1.08) in the post-calving period. As well, the PREI had a significant influence on the results for the two groups ($P = 0.01$), indicating that IMI were not distributed in equally proportions over the precalving sampling time. The risk of *S. aureus* being present therefore decreased (OR = 0.45, 95 % CI = 0.24 – 0.86) in PREI > 7 days with regard to the period closer to calving (≤ 7 days). The low volume of secretions obtained in some heifers when the calving date was further from the sample date in the precalving period could partially explain these results.

We noted a decrease in the proportion of quarters infected with CNS following treatment with pirlimycin compared to the control group, when we took into account the interaction between treatment and period ($P = 0.008$) (Table 3). The effect was similar as for the *S. aureus* category, i.e. that the proportion of bacteria was similar in the two groups in the precalving period but lower in the treated group in the post-calving period (OR = 0.60, 95 % CI = 0.39 - 0.93). However, we observed a high proportion of quarter cured in both groups following calving ($P < 0.001$). The proportion of quarter cured suggests spontaneous elimination of this bacteria since the proportion decreased significantly in the control group in the post-calving period compared to the precalving period. One of the explanations for this high proportion of quarter cured of CNS was that some CNS would only colonize the teat canal and that the colonies would be eliminated by flushing when the quarter was milked at the onset of lactation (Myllys, 1995).

For other Gram-positive bacteria, a decrease in the proportion of the two groups in the post-calving period versus the precalving period was the only significant difference ($P = 0.04$). Treatment did not significantly influence this category of bacteria ($P = 0.45$).

The proportion of total Gram-positive bacteria in the post-calving period was significantly lower in the treated group than in the control group ($P < 0.001$; Table 3). As well, proportions in the two groups decreased significantly in the post-calving period compared to the precalving period ($P < 0.001$).

Finally, no significant differences were observed for IMI caused by streptococci and Gram-negative bacteria ($P > 0.05$). This is probably due to the sample size, because these two classes of bacteria were isolated in less than 1 % of quarters.

More control heifers were removed from analysis of IMI proportions (13 heifers). The major reason for antibiotic administration was clinical mastitis. We can assume that heifers that received antibiotic could have had IMI and then underestimating the treatment effect on analysis. Statistical analysis with and without removal of heifers were not performed. The same bias is applicable to the next section (proportion cured and NIMI).

Proportion Cured and New Intramammary Infections

The proportion of *S. aureus* IMI cured were not significantly different between the two groups ($P = 0.50$) (Table 4). However, an interesting tendency was observed with regard to proportion of NIMI ($P = 0.07$) (Table 5). As mentioned above, a significant difference between treated and control groups for the proportion of IMI due to *S. aureus* post-calving was found ($P = 0.04$). We seemed to observe a mixed effect of treatment: a curative effect on the IMI present precalving combined with a preventive effect on NIMI. A first hypothesis proposed to explain this preventive effect was that the antibiotic treatment had possibly cured a certain percentage of IMI caused by *S. aureus*, which had not been diagnosed by standard bacteriological culture upon initial sampling. The reported sensitivity of this method is approximately 60 to 85 % for a unique sampling but is increasing with each subsequent sampling (Villanueva et al., 1991; Buelow et al., 1996). Therefore, it is possible that some NIMI found after calving in both groups were in fact IMI that were present prior to calving but remained undiagnosed upon initial bacteriological culture. We have no reason to think that there was a bias of false negative towards the treatment group. We can conclude that the antibiotic treatment likely had a preventive effect for NIMI caused by *S. aureus*.

Antibiotic treatment had a significant effect on the proportion of NIMI between the two groups for the class of total Gram-positive bacteria ($P = 0.007$). Also, PREI ($P = 0.005$)

as well as the interaction between treatment and PREI ($P = 0.03$) were significantly different between groups for the proportion of quarters cured. Treatment is associated with a decrease in the proportion of total Gram-positive bacteria in the treated group when the antibiotic is administered within the week before calving (OR = 0.41, 95 % CI = 0.22 – 0.75). These results correspond to the effects of pirlimycin since its spectrum of activity is limited to Gram-positive bacteria.

NIMI rates for Gram-negative bacteria and yeast were higher in the treated group than in the control group ($P = 0.01$). This effect may be associated with the risks of inserting a canula into the teat canal to infuse antibiotic (Fox et al., 1995). As well, the antibiotic used in the study (pirlimycin hydrochloride) does not have a spectrum of activity that includes Gram-negative bacteria and yeast (Watts et al., 1995). It is therefore vital to perform samples and interventions in heifers during the precalving period in the most sterile fashion possible, to limit risks of NIMI.

Treatment alone did not have a significant effect ($P = 0.31$) on proportion of quarter cured for total IMIs. However, the PREI ($p = 0.007$) as well as the interaction between treatment and PREI ($P = 0.05$) were significantly different between the two groups. This difference corresponds to a better percentage of quarters cured for heifers in the treated group during the week preceding calving (PREI ≤ 7 days) versus the control group (77.9 % vs 61.9 %). In fact, the proportion cured in the treated group remained practically the same in both of the precalving intervals (81.0 % and 77.9 %) but the proportion cured in the control group was clearly lower in the week prior to calving (61.9 %) compared to the proportion cured in the PREI > 7 days (83.6 %). This finding could partially be explain by the fact that *S. aureus* IMI was the category of bacteria with the lowest proportion of cured quarters in the control group and was not distributed equally over the precalving sampling time (Table 3).

The proportion of NIMI overall was not significantly different between the two groups ($P = 0.15$) (Table 5). In fact, treatment reduces the number of NIMI for all classes of bacteria except for Gram-negative and yeast. The number of NIMI was significantly higher in the treated group than the control group for Gram-negative and yeast ($P = 0.01$). By

combining all classes of bacteria including Gram-negative and yeast, the effect of treatment on prevention of NIMI is not significant ($P = 0.15$). Only one study reports a preventive effect of intramammary antibiotic treatment (Fox et al., 2004).

Effect of Treatment on Somatic Cell Count

SCC and L2S values according to group at each of the first three DHI tests post-calving are presented in Table 1. The difference between the mean SCC values of the two groups was not statistically significant in either DHI tests. A decrease in the mean SCC in the two groups was noted between the first and the second DHI tests. The mean L2S was compared between the control group and the treated group at each one of the DHI tests (Table 6). Treatment ($P = 0.19$), PREI ($P = 0.39$), the interaction between treatment and DHI test number ($P = 0.71$), and the interaction between treatment and PREI ($P = 0.70$) did not have a significant effect on the L2S. Only the DHI test number, for all of the observations, was associated with a decrease in L2S ($P < 0.001$). This significant effect of the DHI tests number was expected since it had already been reported in previous studies (Boddie et al., 1987; Myllys et Rautala, 1995; Vlieghe et al., 2004). In spite of a decrease in the L2S between the two groups for each of the three DHI tests, the differences between the two groups were not significant ($P > 0.05$) and we had to reject the hypothesis that intramammary antibiotic treatment decreases inflammation in the mammary gland. We may presume that a larger sample size could lead to a significant difference, especially at the first post-calving DHI test since it was at this test point where the difference between the two groups was the greatest in favor of treatment. As well, the beneficial effect of antibiotic treatment in the precalving period would logically be greater and more obvious at the onset of lactation.

Effect of Treatment on Milk Production

Estimated milk production at 305 days in milk (P305) was 8005 kg ($n = 152$) for the control group and 8048 kg ($n = 173$) for the treated group (Table 1). According to model 1 (continuous P305 model), treatment alone did not have a significant effect ($P = 0.08$) but there was a significant interaction between treatment and PREI ($P = 0.008$) (Table 6).

More precisely, and in comparison to the control group, milk production in the treated group was greater the earlier the treatment was administered prior to calving. This increase is present when the treatment is administered more than seven days preceding the calving date. However, when the treatment was administered seven days prior to calving, milk production was similar between the two groups. A negative effect on production was observed when treatment was administered less than one week before calving.

In light of these results, the decision was made to divide the PREI interval into two groups, the first one being ≤ 7 days precalving and the second > 7 days precalving (model 2). When the heifers were classified with regard to these two classes, we observe a different effect of treatment on milk production ($P = 0.05$). In the first interval, at less than 7 days ($n = 197$), the mean estimated milk production calculated using the model is 7911 kg for the control group ($n = 97$) and 7661 kg for the treated group ($n = 100$). However, in the second interval ($n = 128$), mean milk production is 7844 kg for the control group ($n = 55$) and 8209 kg for the treated group ($n = 73$). For the treated group, this represents an increase between the two intervals of more than 500 kg of milk, whereas milk production for the control group remained unchanged. Treating heifers with antibiotic more than seven days precalving was associated with an increase in estimated milk production by more than 350 kg compared to heifers in the control group. This increase represents a profit of \$245 per treated heifer during this period at a current Canadian milk price of approximately \$0.67/L.

One explanation for the PREI effect on milk production in treated heifers is that the greater the interval between treatment and calving, the greater the exposure of bacteria to antibiotic. However, the inverse effect on production observed close to calving is difficult to explain and would require another study to reproduce this result and to develop an hypothesis. We could speculate that any intervention by intramammary infusion within an interval of less than one week before the expected calving date would have a negative influence on milk production in heifers and also increase the risk of a NIMI caused by environmental pathogens. To our knowledge, no study has yet reported on the infusion of an intramammary antibiotic so close to calving (< 7 days). A study that would include a group which does not undergo any manipulation before calving would enable a partial

verification of this hypothesis by also eliminating the stress to heifers created when they are restrained and subjected to various procedures.

Antibiotic Residue

Only one heifer out of 20 tested positive for pirlimycin hydrochloride at two days post-calving. The heifer had received an infusion four days before calving. This low rate of 5 % leads us to believe that the presence of residues at 60 hours post-calving could be null, but tests were not performed to confirm this supposition.

Table 1. Mean and range values () for the 305 days milk production estimate (P305), somatic cell counts (SCC) and linear scores (L2S) for the first 3 DHI tests and for the principal time intervals between procedures.

Variable	Summary	Control	Treatment
P305 (kg) ¹	8028 (2888-13001)	8005 (2888-10921)	8048 (5014-13001)
SCC 1 (*1000/mL)	231 (3-5546)	232 (7-5546)	229 (3-5544)
SCC 2 (*1000/mL)	122 (2-2401)	130 (7-2401)	114 (2-1362)
SCC 3 (*1000/mL)	124 (1-3114)	117 (6-1227)	131 (1-3114)
L2S 1	1.96 (0.22-6.10)	2.04 (0.44-6.10)	1.88 (0.22-6.10)
L2S 2	1.71 (0.15-5.26)	1.76 (0.44-5.26)	1.67 (0.15-4.70)
L2S 3	1.70 (0.08-5.52)	1.75 (0.39-4.60)	1.65 (0.08-5.52)
CA-TEST ² 1 (d)	24 (3-60)	23 (3-60)	24 (4-60)
CALV-TEST 2 (d)	58 (32-99)	58 (32-99)	57 (32-99)
CALV-TEST 3 (d)	92 (56-149)	92 (56-139)	91 (57-149)
PREI ³ (d)	7.1 (0-23)	6.7 (0-23)	7.4 (0-23)
POSTI ⁴ (d)	4.6 (0-14)	4.7 (0-14)	4.5 (0-11)

¹ Control group n = 152 heifers, treatment group n = 173 heifers.

² Interval between calving and each one of the first three DHI tests.

³ Interval between the precalving visit and calving.

⁴ Interval between calving and the post-calving visit.

Table 2. Proportion of intramammary infections per heifer and per quarter for the two sampling periods (precalving (PRE) and post-calving (POST)).

Bacteria	Period	Control ¹		Treatment ²	
		Heifer % ³	Quarter % ³	Heifer %	Quarter %
<i>Staph aureus</i>	PRE	10.2	3.5	10.4	2.8
	POST	10.4	3.5	5.6	1.9
CNS ⁴	PRE	57.4	24.9	61.1	26.5
	POST	27.7	10.5	20.4	6.3
Streptococci	PRE	3.0	0.7	4.0	1.2
	POST	1.7	0.4	1.5	0.4
Other Gram +	PRE	11.2	3.3	10.4	3.4
	POST	9.2	2.4	4.6	1.6
Total Gram +	PRE	65.5	30.5	70.6	32.6
	POST	42.8	16.4	27.0	9.8
Gram - and yeast	PRE	4.1	1.5	4.0	1.3
	POST	2.9	0.7	6.6	2.5
Total IMI	PRE	67.5	31.9	70.6	33.4
	POST	44.6	17.1	31.3	12.3

¹ Precalving n = 197 heifers and n = 822 quarters; post-calving n = 173 heifers and n = 714 quarters.

² Precalving n = 201 heifers and n = 857 quarters; post-calving n = 196 heifers and n = 806 quarters.

³ Heifers or quarters could reappear in more than one bacterial category.

⁴ Coagulase negative staphylococci.

Table 3. Proportion of intramammary infections per quarter for the logistic regression model for the two sampling periods (precalving (PRE) and post-calving (POST)).

Bacteria	Period	Control ¹	Treatment ²	Explanatory variable	P
		Quarter (%)	Quarter (%)		
<i>Staph aureus</i>	PRE	3.5	2.8	TX*sampling ³	*
	POST	3.5	1.9	PREI ⁴	**
CNS ⁶	PRE	24.9	26.5	Sampling	**
	POST	10.5	6.3	TX*sampling TX*PREI ⁵	** †
Streptococci	PRE	0.7	1.2	Sampling	*
	POST	0.4	0.4		
Other Gram +	PRE	3.3	3.4	Sampling	*
	POST	2.4	1.6		
Total Gram +	PRE	30.5	32.6	Sampling	**
	POST	16.4	9.8	TX*Sampling TX*PREI	** *
Gram - and yeast	PRE	1.5	1.3	TX	†
	POST	0.7	2.5	TX*sampling	†
Total IMI	PRE	31.9	33.4	Sampling	**
	POST	17.1	12.3	PREI TX*sampling	† **

¹ Precalving n = 822 quarters; post-calving n = 714 quarters.

² Precalving n = 857 quarters; post-calving n = 806 quarters.

³ Interaction between treatment (TX) and sampling periods.

⁴ Interval between precalving visit and calving.

⁵ Interaction between treatment and the interval between precalving visit and calving.

⁶ Coagulase negative staphylococci.

† P ≤ 0.10.

* P ≤ 0.05.

** P ≤ 0.01.

Table 4. Proportion of quarters cured (%) for control and treatment groups based on the logistic regression model.

Bacteria	Control	Treatment	Explanatory variable	P	OR
<i>Staph aureus</i>	36.8 (7) ¹	50.0 (12)	TX ³	NS	
CNS ²	75.0 (132)	86.7 (183)	TX PREI ⁴	NS †	0.56
Streptococci	80.0 (4)	90.0 (9)			
Other Gram +	87.0 (20)	96.0 (24)	TX	NS	
Gram – and yeast	90.9 (10)	90.0 (9)			
Total Gram +	≤7 ⁶ (84)	79.7 (114)	TX IPRE	NS **	0.49
	>7 ⁷ (60)	82.8 (96)	TX*PREI ⁵	*	0.41
Total IMI	≤7 (91)	77.9 (116)	TX IPRE	NS **	0.52
	>7 (61)	81.0 (94)	TX*PREI	*	0.49

¹ Number of infected quarters cured.

² Coagulase negative staphylococci.

³ TX = treatment.

⁴ Interval between precalving visit and calving.

⁵ Interaction between treatment and the interval between precalving visit and calving.

⁶ Interval between precalving visit and calving (PREI) of 7 days or less.

⁷ Interval between precalving visit and calving (PREI) of more than 7 days.

† P ≤ 0.10.

* P ≤ 0.05.

** P ≤ 0.01.

Table 5. Proportion of new intramammary infections (%) for control and treatment groups based on the logistic regression model.

Bacteria	Control	Treatment	Variable	P	OR
<i>Staph aureus</i>	1.8 (12) ¹	0.4 (3)	TX ⁴	†	0.22
CNS ⁵	5.7 (30)	3.8 (22)	TX	NS	
Streptococci	0.3 (2)	0.1 (1)			
Other Gram +	2.0 (14)	1.3 (10)	TX	NS	
Gram – and yeast	0.6 (4)	2.3 (18)	TX	*	4.11
Total Gram + ≤7 ²	9.9 (29)	5.6 (17)	TX	**	0.45
>7 ³	9.9 (20)	3.9 (9)			
Total IMII ≤7	11.3 (32)	7.4 (22)	TX	NS	
>7	10.0 (20)	7.4 (17)			

¹ Number of new infected quarters

² Interval between precalving visit and calving (PREI) of 7 days or less.

³ Interval between precalving visit and calving (PREI) of more than 7 days.

⁴ TX = treatment.

⁵ Coagulase negative staphylococci.

† P ≤ 0.10.

* P ≤ 0.05.

** P ≤ 0.01.

Table 6. Effect of treatment (TX), DHI test number, interval between precalving visit and calving (PREI) and their interaction between TX and PREI (TX*PREI) on the 305 days milk production estimates (P305) and linear scores (L2S) (ls mean).

Variable		Control ⁴	Treatment ⁵	Explanatory variable	P
P305 (kg) model 1 ¹	3 days precalving	7860	7572	TX PREI*TX	† **
	7 days precalving	7888	7879		
	14 days precalving	7938	8415		
P305 (kg) model 2 ²	≤ 7 days precalving	7911	7661	TX PREI*TX	NS *
	> 7 days precalving	7844	8209		
L2S ³	L2S1	2.04	1.88	TX	NS
	L2S2	1.76	1.67	Test number	**
	L2S3	1.75	1.65		

¹ 305 days milk production estimates analysis in a continuous model.

² 305 days milk production estimates analysis in a model where the interval between precalving visit and calving is in 2 classes intervals (≤ 7 days or > 7 days).

³ Linear scores for each first three DHI tests.

⁴ n = 152 heifers.

⁵ n = 173 heifers.

† P ≤ 0.10.

* P ≤ 0.05.

** P ≤ 0.01.

CONCLUSION

When administered to heifers between 6 and 12 days before the expected date of first calving, a pirlimycin intramammary treatment eliminated more infections present at the time of treatment and significantly decreased the proportion of intramammary infection at the onset of lactation, including infections caused by *Staphylococcus aureus*. Intramammary infections in the precalving and post-calving periods were caused, in decreasing order, by coagulase-negative staphylococci, *S. aureus*, Gram-negative bacteria and yeast, and streptococci. Concerning all Gram-positive bacteria, treatment had a curative effect on intramammary infections present before calving and a preventive effect on new intramammary infections at calving. SCC was not significantly affected by treatment, but milk production was increased by more than 350 kg in heifers treated more than one week before calving. In a future study, an efficient diagnostic method in the precalving period for detecting intramammary infection or identifying risk factors associated with intramammary infection should be developed in order to evaluate the effect of antibiotic treatment targeting only infected quarters.

ACKNOWLEDGEMENTS

Pfizer Animal Health and « Le fonds du Centenaire » of the Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal supported this work. Authors want to thank the animal health technicians and the participant dairy herds of the bovine ambulatory clinic of the Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal. Authors want to express their appreciation to M. Guy Beauchamp for his assistance with statistical analysis.

REFERENCES

- Boddie, R. L., S. C. Nickerson, and W. E. Owens. 1987. Udder microflora in nonlactating heifers. *Agri-Practice* 8:22-25.
- Buelow, K. L., W. J. Goodger, M. T. Collins, M. K. Clayton, K. V. Nordlund, and C. B. Thomas. 1996. A model to determine sampling strategies and milk inoculum volume for detection of intramammary *Staphylococcus aureus* infections in dairy cattle by bacteriological culture. *Preventive Veterinary Medicine*. 25: 3/4, 343-355.
- Edinger, D., B. A. Tenhagen, P. Kalbe, G. Klunder, B. Baumgartner, and W. Heuwieser. 2000. Effect of teat dipping with a germicide barrier teat dip in late gestation on intramammary infection and clinical mastitis during the first 5 days post-partum in primiparous cows. *J Vet. Med. A* 47:463-468.
- Fortin, M., S. Messier, J. Paré, R. Higgins. 2003. Identification of catalase-negative, non-beta-hemolytic, gram-positive cocci isolated from milk samples. *Journal of Clinical Microbiology*. 41:1, 106-109.
- Fox, L. K., A. A. Borm, K. E. Leslie, J. S. Hogan, S. M. Andrew, S. P. Oliver, Y. H. Schukken, W. E. Owens, and C. Norman. 2004. Effect of prepartum antibiotic therapy in heifers on milk production and mastitis postpartum. *NMC Annual Meetings Proceedings* 2004:114-121.
- Fox, L. K., J. W. Hallberg, S. T. Chester, S. C. Nickerson, J. W. Pankey, and L. D. Weaver. 1995. Survey of intramammary infection in dairy heifers at breeding age and first parturition. *J Dairy Sci* 78:1619-1628.
- Hallberg, J. W., K. J. Dame, S. T. Chester, C. C. Miller, L. K. Fox, J. W. Pankey, S. C. Nickerson, and L. J. Weaver. 1995. The visual appearance and somatic cell count of

mammary secretions collected from primigravid heifers during gestation and early postpartum. *J Dairy Sci* 78:1629-1636.

Jonsson, P., S. O. Olsson, A. S. Olofson, C. Falth, O. Holmberg, and H. Funke. 1991. Bacteriological investigations of clinical mastitis in heifers in Sweden. *J. Dairy Res.* 58:179-185.

Matthews, K. R., R. J. Harmon, and B. E. Langlois. 1992. Prevalence of *Staphylococcus* species during the periparturient period in primiparous, and multiparous cows. *J Dairy Sci* 75:1835-1839.

Matthews, K. R., R. J. Harmon, and B. E. Langlois. 1988. Use of latex teat dip with germicide during the prepartum period. *J Dairy Sci* 71:1940-1946.

Myllys, V. 1995. *Staphylococci* in heifer mastitis before and after parturition. *J of Dairy Res* 62:51-60.

Myllys, V., and H. Rautala. 1995. Characterization of clinical mastitis in primiparous heifers. *J Dairy Sci* 78:538-545.

Nickerson, S. C., W. E. Owens, and R. L. Boddie. 1995. Mastitis in dairy heifers: initial studies in prevalence and control. *J Dairy Sci* 78:1607-1618.

NMC. 2004. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. 4th ed. NMC, Verona, WI.

Nordhaug, M. L., L. L. Nesse, N. L. Norcross, and R. Gudding. 1994. A field trial with an experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. *J. Dairy Sci.* 77:1267-1275.

Oliver, S. P., B. E. Gillespie, S. J. Ivey, M. J. Lewis, D. L. Johnson, K. C. Lamar, H. Moorehead, H. H. Dowlen, S. T. Chester, and J. W. Hallberg. 2004. Influence of prepartum

pirlimycin hydrochloride or penicillin-novobiocin therapy on mastitis in heifers during early lactation. *J Dairy Sci* 87:1727-1735.

Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, and H. H. Dowlen. 1997a. Antibiotic residues and prevalence of mastitis pathogen isolation in heifers during early lactation following prepartum antibiotic therapy. *J. Vet. Med. B* 44:213-220.

Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, and H. H. Dowlen. 1992. Influence of prepartum antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers during early lactation. *J Dairy Sci* 75:406-414.

Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, H. H. Dowlen, E. C. Jaenicke, and R. K. Roberts. 2003. Prepartum antibiotic treatment of heifers: milk production, milk quality and economic benefit. *J Dairy Sci* 86:1187-1193.

Oliver, S. P., and B. A. Mitchell. 1983. Intramammary infections in primigravid heifers near parturition. *J. Dairy Sci* 66:1180-1183.

Owens, W. E., S. C. Nickerson, R. L. Boddie, G. M. Tomita, and C. H. Ray. 2001. Prevalence of mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy. *J Dairy Sci* 84:814-817.

Owens, W. E., S. C. Nickerson, P. J. Washburn, and C. H. Roy. 1991. Efficacy of a cephalosporin dry cow product for treatment of experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis in heifers. *J Dairy Sci* 74:3376-3382.

Owens, W. E., and C. H. Ray. 1996. Therapeutic and prophylactic effect of prepartum antibiotic infusion in heifers. *J. Vet. Med.* 43:455-459.

Pankey, J. W., P. A. Drechsler, and E. Wildman. 1991. Mastitis prevalence in primigravid heifers at parturition. *J Dairy Sci* 74:1550-1552.

Schultze, W. D. 1985. Control of new intramammary infection at calving by prepartum teat dipping. *J Dairy Sci* 68:2094-2099.

Tenhagen, B. A., D. Edinger, B. Baumgartner, P. Kalbe, G. Klunder, and W. Heuwieser. 2001. Efficacy of a herd-specific vaccine against *Staphylococcus aureus* to prevent postpartum mastitis in dairy heifers. *J Vet. Med. A* 48:601-607.

Trinidad, P., S. C. Nickerson, and T. K. Alley. 1990a. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. *J Dairy Sci* 73:107-114.

Trinidad, P., S. C. Nickerson, T. K. Alley, and R. W. Adkinson. 1990b. Efficacy of intramammary treatment in unbred and primigravid dairy heifers. *JAVMA*, 197:465-470.

Villanueva, M. R., J. W. Tyler, and M. C. Thurmond. 1991. Recovery of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus aureus* from fresh milk and frozen bovine milk. *JAVMA*. 198: 8, 1398-1400.

Vliegheer, S. D., H. W. Barkema, H. Stryhn, H. Laevens, I. Dohoo, G. Opsomer, and A. Kruif. 2004. Impact of early lactation somatic cell count from Belgian dairy heifers on udder health and production during the subsequent first lactation. *NMC Annual Meetings Proceedings* 2004:100-110.

Waage, S., T. Mork, A. Rosos, D. Aasland, A. Hunshamar, and S. A. Odegaard. 1999. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 82:712-719.

Waage, S., S. Sviland, and S. A. Odegaard. 1998. Identification of risk factors for clinical mastitis in dairy heifers. *J Dairy Sci.* 81:1275-1284.

Watts, J. L., S. A. Salmon, R. J. Yancey, S. C. Nickerson, L. J. Weaver, C. Holmberg, J. W. Pankey, and L. K. Fox. 1995. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary gland of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 78 :1637-1648.

Discussion générale

Statistiques descriptives générales

Un total de 428 taures provenant de 23 troupeaux ont été incluses dans cette étude. L'IPRÉ ainsi que l'intervalle entre le vêlage et la première visite post-vêlage était similaire entre les deux groupes (Table 1). Les résultats de cette étude pourraient être inférés à la population des taures laitières de l'Est du Canada. En effet, la taille des troupeaux, les races, la régie de troupeau ainsi que le climat sont assez semblables entre ces provinces.

Proportion des infections intra-mammaires en période pré-vêlage

Chez les primipares, plusieurs auteurs rapportent des proportions d'IIM en période pré-vêlage se situant entre 24 % et 75 % (Trinidad et coll., 1990a ; Oliver et coll., 1992 ; Fox et coll., 1995). Nos résultats indiquent une proportion relativement élevée d'IIM (Table 2) comme ceux rapportés dans les études de Trinidad et coll. (1990a), de Oliver et coll. (1992) et de Owens et Ray (1996) malgré le fait que notre étude était réalisée dans une région beaucoup plus nordique que les 3 études précédentes ; les températures plus chaudes et humides étant souvent associées à une proportion plus élevée d'IIM. En effet, la saison est un facteur de risque d'IIM (Waage et coll., 1998 et 1999 ; Jonsson et coll., 1991).

La proportion de vaches infectées par *S. aureus* dans notre étude se situait dans les limites des proportions rapportées dans la littérature qui varient de 0.2 % à 14.9 % (Trinidad et coll., 1990a ; Matthews et coll., 1992 ; Fox et coll., 1995). Les bactéries SCN étaient les plus fréquemment rencontrées comme rapporté dans toutes les études portant sur la mammité chez les taures.

Proportion des infections intra-mammaires en période post-vêlage

La diminution apparente des IIM totales dans le groupe témoin suite au vêlage était de 33.9 % des taures et 46.4 % des quartiers infectés (Table 2). Dans le groupe traité, la cette diminution était de 55.7 % des taures infectées et 63.2 % des quartiers infectés.

Les proportions d'IIM totales ont diminué de manière significative ($P < 0.001$) dans les deux groupes suite au vêlage (Table 3). De plus, un effet significatif du traitement a été observé ($P = 0.009$). Cet effet se reflétait par une interaction entre le traitement et la période d'échantillonnage (pré-vêlage ou post-vêlage). En effet, les ratios de cote (odds ratio) permettent d'évaluer que le risque de présence d'IIM était similaire dans les deux groupes en période pré-vêlage (OR = 1.14, IC 95 % = 0.87 – 1.49) mais était plus faible dans le groupe traité (OR = 0.69, IC 95 % = 0.48 – 0.98) en période post-vêlage. Le traitement a donc diminué significativement la proportion d'IIM totales suite au vêlage par rapport au groupe témoin.

On a également retrouvé une différence significative entre les groupes traité et témoin pour la proportion d'IIM causées par la bactérie *S. aureus* ($P = 0.04$) (Table 3). Les ratios de cote permettent d'évaluer que le risque de présence de la bactérie était similaire dans les deux groupes en période pré-vêlage (OR = 0.98, IC 95 % = 0.49 – 1.96) mais plus faible dans le groupe traité (OR = 0.51, IC 95 % = 0.24 – 1.08) en période post-vêlage. De plus, l'intervalle entre la date d'échantillonnage et le date du vêlage influençait significativement les résultats dans les 2 groupes ($P = 0.01$) ce qui signifie que la proportion de quartiers infectés par la bactérie n'était pas distribuée également selon le moment de la prise d'échantillon en période pré-vêlage. Le risque de présence de *S. aureus* diminuait dans l'IPRÉ > 7 jours (OR = 0.45, IC 95 % = 0.24-0.86). Le faible volume de sécrétions obtenu chez certaines taures lorsque la date de vêlage était assez éloignée par rapport à la date d'échantillonnage en période pré-vêlage pourrait expliquer en partie ce résultat. La proportion de quartiers infectés par cette bactérie était donc significativement

plus faible chez les taures du groupe traité en période post-vêlage et chez les taures des deux groupes en période pré-vêlage lorsque échantillonnées dans l'IPRÉ > 7 jours.

On a noté une plus forte baisse de la proportion de vaches infectées au SNC suite au traitement avec la pirlimycine par rapport au groupe témoin, lorsque l'on tient compte de l'interaction entre le traitement et la période ($P = 0.008$) (Table 3). L'effet était dans le même sens que pour la bactérie *S. aureus*, c'est-à-dire que la proportion d'infection était similaire dans les deux groupes en période pré-vêlage mais plus faible dans le groupe traité en période post-vêlage ($OR = 0.60$, $IC\ 95\ \% = 0.39 - 0.93$). Cependant, on a observé une proportion de guérison élevée dans les deux groupes, suite au vêlage ($P < 0.001$). Cette proportion de guérison élevée laisse croire à une guérison spontanée élevée associée à cette bactérie puisque la proportion diminuait significativement dans le groupe témoin en période post-vêlage par rapport à la période pré-vêlage. Une des explications avancées pour expliquer cette proportion de guérison élevée associée aux SCN serait que certains SCN coloniseraient seulement le canal du trayon et l'effet de vidange associé avec le début de la lactation éliminerait ainsi ces infections (Myllys, 1995).

Une diminution de proportion d'infection dans les deux groupes en période post-vêlage par rapport à la période pré-vêlage était le seul résultat statistiquement significatif pour les autres bactéries à Gram positif ($P = 0.04$). Le traitement n'influençait pas cette catégorie de bactéries de façon significative ($P = 0.45$).

La proportion d'infection des quartiers aux bactéries à Gram positif totales en période post-vêlage était significativement plus basse dans le groupe traité que dans le groupe témoin ($P < 0.001$; Table 3). Également, les proportions dans les deux groupes diminuaient en période post-vêlage de manière significative par rapport à la période pré-vêlage ($P < 0.001$).

Finalement, aucune différence significative n'a été mise en évidence pour les proportions des IIM causées par les streptocoques et les bactéries à Gram négatif ($P > 0.05$). Ceci est probablement dû à la taille de l'échantillon, car les proportions de ces 2 classes de bactéries étaient faibles, à moins de 1 % des quartiers.

Un biais a pu être introduit dans nos analyses par les pertes au suivi de taures. Ces taures provenaient de 21 troupeaux différents. Les pertes variaient selon les troupeaux de 1 à 3 taures exception faite de un troupeau (Ferme Maskita) où 6 taures ont été retirées de l'étude (3 césariennes, 1 mortalité et 2 mammites). Les analyses statistiques incluant toutes les taures n'ont pas été effectuées afin de comparer et démontrer ou non la présence d'un biais.

Un plus grand nombre de taures appartenant au groupe contrôle ont été retirées des diverses analyses. Onze (11) taures de plus ont été retirées dans le groupe contrôle pour les analyses de la production laitière, du CCS et du L2S alors que c'étaient 13 taures de plus pour le même groupe pour les analyses de proportion d'IIM. En y regardant de plus près, on remarque que les pertes au suivi associées aux données manquantes sont relativement balancées entre les deux groupes. En effet, une différence de 3 taures est observée pour les analyses de production laitière (38 témoins et 35 traitées) alors qu'une différence de 6 est retrouvée pour les analyses d'IIM (12 témoins et 18 traitées). Ce sont donc les pertes en raison de l'administration d'un antibiotique qui n'étaient pas équilibrées entre les 2 groupes. On observe 19 taures témoins et 11 taures traitées retirées pour les analyses de production laitière alors que ce sont 21 taures témoins contre seulement 1 traitée qui sont retirées pour les analyses d'IIM.

Dès lors, on peut suspecter un biais dans nos analyses qui sous-estime l'effet du traitement. En effet, la raison principale mentionnée lors d'administration d'un antibiotique était la présence d'une mammite clinique (Annexe I) ce qui implique la plupart du temps la présence d'un pathogène majeur et diminue potentiellement la production laitière des sujets affectés. Donc, si les taures ayant reçu un antibiotique appartenaient en majorité au groupe contrôle et qu'elles ont été retirées des analyses, un biais au détriment du traitement a pu être introduit. Ce biais a pu être introduit dans la section suivante également (guérison et nouvelles infections intra-mammaires).

Guérison et nouvelles infections intra-mammaires

L'analyse des proportions de guérison et de NIIM permet de mieux comprendre et expliquer les variations observées des proportions d'IIM. Par exemple, une proportion de NIIM élevée suite à l'échantillonnage pré-vêlage peut masquer une guérison élevée des IIM présentes avant le vêlage si la proportion d'IIM est la seule donnée analysée. En effet, la proportion d'IIM pourrait être demeurée stable post-vêlage en raison de cet effet mixte (guérison et NIIM). Il est donc primordial de connaître les proportions de guérison et de NIIM en plus des proportions de NIIM afin d'avoir la vision la plus juste possible de l'effet du traitement.

Le traitement seul n'a pas eu d'effet significatif ($P = 0.31$) sur la proportion de guérison des IIM totales (Table 4). Cependant l'IPRÉ ($P = 0.007$) ainsi que l'interaction entre le traitement et l'IPRÉ ($P = 0.05$) étaient significativement différents entre les deux groupes. Cette différence significative s'explique par une proportion plus élevée de guérison des taures du groupe traité par rapport au groupe témoin dans la semaine précédant le vêlage (IPRÉ < 7 jours) (77.9 % vs 61.9 %). En effet, la proportion de guérison dans le groupe traité est demeuré sensiblement la même dans les deux intervalles pré-vêlages (81.0 % et 77.9 %) mais la proportion de guérison chez le groupe témoin était nettement plus bas dans la semaine précédant le vêlage (61.9 %) par rapport à la proportion de guérison dans l'IPRÉ > 7 jours (83.6 %).

La proportion de guérison des IIM à *S. aureus* n'était pas significativement différente entre les 2 groupes ($P = 0.50$). Par contre, une tendance est observée par rapport à la proportion de NIIM ($P = 0.07$). En effet, on a observé une NIIM, suite à la visite pré-vêlage, dans 12 quartiers du groupe témoin par rapport à seulement 3 pour le groupe traité. Cependant, tel que mentionné, une différence significative était notée entre les deux groupes au niveau des proportions d'IIM à *S. aureus* en période post-vêlage. Un effet significatif mixte du traitement est observé : un effet curatif des IIM présentes combiné à un effet préventif sur les NIIM. Une première hypothèse avancée pour expliquer ce résultat

est que le traitement antibiotique a possiblement guéri un certain nombre d'IIM causées par *S. aureus* qui n'avait pas été diagnostiquées par la culture au premier échantillonnage. La sensibilité de cette méthode diagnostique n'est que d'environ 60 à 85 % au premier échantillon mais s'améliore lors d'échantillonnage répété (Villanueva et coll., 1991 ; Buelow et coll., 1996). Ainsi, possiblement que certaines des NIIM présentes dans les deux groupes en période post-vêlage sont en fait des IIM présentes avant le vêlage mais non-diagnostiquées à la culture bactériologique. Nous n'avons aucune raison de croire qu'il y avait un biais relatif à la présence de faux négatifs en faveur du groupe traité. Ainsi, nous pouvons conclure que l'antibiothérapie aurait réellement un certain effet préventif pour les NIIM causées par *S. aureus*.

Le traitement antibiotique avait un effet significatif sur la proportion de NIIM entre les deux groupes pour la classe de bactéries à Gram positif totales ($P = 0.007$). L'effet de l'IPRÉ ($P = 0.005$) ainsi que l'interaction entre le traitement et l'IPRÉ ($P = 0.03$) étaient significativement différents entre les deux groupes pour la proportion de guérison par quartier. Le traitement est associé à une baisse de la proportion de bactéries à Gram positif totales dans le groupe traité lorsque le traitement est effectué dans la semaine précédant le vêlage ($OR = 0.41$, $IC\ 95\ \% = 0.22 - 0.75$). Ces résultats correspondent à l'effet de la pirlimycine puisque son spectre d'action se limite aux bactéries à Gram positif (Watts et coll., 1995).

La proportion de NIIM pour les bactéries à Gram négatif et les levures était plus élevée dans le groupe traité que dans le groupe témoin ($P = 0.01$). Cet effet peut être associé aux risques liés à l'introduction dans le trayon d'une canule courte pour infuser l'antibiotique de façon aseptique (Fox et coll., 1995). Ces résultats peuvent servir de précautions supplémentaires à prendre lors de la désinfection des trayons lors d'infusion. De plus, l'antibiotique utilisé dans l'étude (hydrochloride de pirlimycine) n'a pas d'effet reconnu contre les bactéries à Gram négatif et les levures (Watts et coll., 1995). Un groupe contrôle avec placebo aurait permis de mettre en évidence le risque réel associé à l'infusion intra-mammaire seulement. Cependant, ce risque est difficilement justifiable et acceptable pour les participants d'une étude effectuée dans des troupeaux commerciaux.

La proportion de NIIM totales n'était pas significativement différente entre les deux groupes ($P = 0.15$) (Table 5). En effet, le traitement réduit le nombre de NIIM pour toutes les classes de bactéries sauf pour les bactéries à Gram négatif et les levures. Le nombre de NIIM est significativement supérieur pour le groupe traité par rapport au groupe contrôle pour les bactéries à Gram négatif et les levures ($P = 0.01$). En combinant toutes les classes de bactéries, l'effet du traitement sur la prévention des NIIM est donc non statistiquement significatif ($P = 0.15$). Une seule autre étude rapporte un effet préventif d'un traitement antibiotique intra-mammaire (Fox et coll., 2004).

Effet du traitement sur le comptage de cellules somatiques

L'écart entre les valeurs moyennes du CCS des 2 groupes n'était pas statistiquement significatif à aucune des pesées de lait. Une baisse du CCS moyen dans les deux groupes était notable entre la première et la seconde pesée (Table 1). Le L2S moyen a été comparé entre le groupe témoin et le groupe traité à chacune des pesées de lait (Table 6). Le traitement ($P = 0.19$), l'IPRÉ ($P = 0.39$), l'interaction entre le traitement et l'ordre chronologique du test ($P = 0.71$), et l'interaction entre le traitement et l'IPRÉ ($P = 0.70$) n'ont pas eu d'effet significatif sur le L2S. Seul l'ordre chronologique de la pesée de lait, pour l'ensemble des observations, était associé à une diminution du L2S ($P < 0.001$).

Cet effet significatif de l'ordre de la pesée de lait était attendu puisqu'il avait déjà été rapporté dans d'autres études (Boddie et coll., 1987 ; Myllys et Rautala, 1995 ; Vlieghe et coll., 2004). Par contre, l'hypothèse que le traitement à l'aide d'un antibiotique intra-mammaire diminue l'inflammation de la glande mammaire n'a pas été démontrée dans la présente étude puisqu'aucun effet significatif n'a été observé sur le CCS et le L2S moyen qui sont des mesures indirectes de l'inflammation de la glande mammaire. On aurait pu s'attendre à un effet significatif puisque le traitement a diminué de manière statistiquement significative les proportions d'IIM en période post-vêlage. On peut supposer que la baisse du CCS suite à une guérison bactériologique du quartier nécessite un certain délai. D'autre part, une plus grande taille d'échantillon aurait possiblement permis d'observer une

différence significative surtout lors du premier test post-vêlage puisque c'est à ce test que l'écart entre les deux groupes était le plus marqué. De plus, l'effet bénéfique d'un traitement avec un antibiotique en période pré-vêlage serait logiquement plus marqué et apparent en début de lactation soit dans la période associée à la première pesée de lait. Finalement, il est à noter que le CCS était obtenu à partir des données du PATLQ (contrôle laitier) ce qui impose des limitations à notre analyse. En effet, un CCS effectué sur un échantillon prélevé au moment de notre visite post-vêlage aurait peut-être été plus représentatif de l'effet du traitement sur le CCS et le L2S. Une comparaison entre le CCS effectué au moment du prélèvement et le CCS obtenu à partir des données du PATLQ aurait facilité l'interprétation de nos résultats.

Effet du traitement sur la production laitière

Selon le modèle 1, où la production laitière estimée à 305 jours était évaluée de façon continue, le traitement seul n'a pas eu d'effet significatif ($P = 0.08$) mais une interaction significative entre le traitement et l'intervalle entre la date d'échantillonnage et la date du vêlage était présente ($P = 0.008$) (Table 6). En effet, plus on traite loin de la date du vêlage, plus la production de lait du groupe traité est augmentée par rapport à celle du groupe témoin. Cette augmentation est présente lorsque le traitement est administré plus de 7 jours précédant le vêlage. Par contre, lors d'un traitement à 7 jours pré-vêlage, la production laitière est semblable dans les 2 groupes. Un effet négatif sur la production est observé lorsque le traitement est administré dans la semaine précédant le vêlage.

Suite à ce résultat, il a été décidé de traiter l'intervalle IPRÉ en deux classes, soit le premier intervalle, ≤ 7 jours pré-vêlage et le second, > 7 jours pré-vêlage (modèle 2). Lorsque les taures sont regroupées selon ces deux classes, on observe également un effet différent du traitement sur la production laitière ($P = 0.05$). Dans le premier intervalle, à moins de 7 jours ($n = 197$), la production laitière estimée moyenne calculée à partir du modèle (lsmean) est de 7911 kg de lait pour le groupe témoin ($n = 97$) et de 7661 kg pour

le groupe traité (n = 100). Par contre, dans le second intervalle (n = 128), la production laitière moyenne est de 7844 kg pour le groupe témoin (n = 55) et de 8209 kg pour le groupe traité (n = 73). Ceci représente pour le groupe traité une augmentation entre les deux intervalles de plus de 500 kg de lait tandis que la production de lait pour le groupe témoin est demeurée stable. Le traitement des taures avec l'antibiotique, plus de 7 jours pré-vêlage, augmente la production laitière estimée de plus de 350 kg par rapport aux taures du groupe témoin. Cette augmentation représente un profit de 245 \$ par taure traitée durant cette période au prix du lait approximatif canadien actuel (0.67 \$/L).

Une raison pouvant expliquer l'effet de l'IPRÉ sur la production laitière des taures traitées est que plus l'intervalle entre le traitement et le vêlage est long, plus l'antibiotique est présent longtemps dans la glande mammaire, permettant une exposition plus longue des bactéries présentes. Par contre, l'effet inverse, i.e. une production laitière moindre chez le groupe traité par rapport au groupe témoin, constaté plus près du vêlage est difficilement explicable et nécessiterait une autre étude afin de reproduire ce résultat et d'émettre une hypothèse. On pourrait toutefois spéculer que toute intervention par infusion intramammaire dans un intervalle de moins d'une semaine avant le vêlage prévue pourrait influencer négativement la production laitière des taures. À notre connaissance, aucune étude ne rapporte l'infusion d'un antibiotique intra-mammaire aussi près du vêlage (< 7 jours). Une étude incluant un groupe sans aucune manipulation avant le vêlage permettrait de vérifier en partie cette hypothèse en éliminant également le stress provoqué par la contention des taures lors des manipulations.

Nous observons également un effet contradictoire; i. e. un effet du traitement sur la production laitière mais pas sur le CCS ou le L2S. Le CCS ou le L2S étant des indicateurs d'inflammation de la glande mammaire, il est surprenant de constater que le traitement n'a pas affecté significativement ces indicateurs. En effet, l'hypothèse avancée pour expliquer une amélioration de la production laitière chez les taures traitées en période pré-vêlage est une diminution de l'inflammation suite à la guérison bactériologique et une diminution de la formation de tissu cicatriciel du quartier affecté. Encore ici, un CCS effectué sur un échantillon prélevé au moment de notre visite post-vêlage aurait peut-être été plus représentatif de l'effet du traitement sur le CCS et le L2S.

Retour sur le protocole

Quelques points pourraient être modifiés dans le protocole si cette recherche devait être répétée.

Premièrement, un meilleur suivi auprès des producteurs permettrait de recueillir plus de taures. Malgré des explications à plusieurs reprises, peu de producteurs ont respecté le protocole en tout temps. En effet, plusieurs ont omis de m'appeler pour m'informer d'un vêlage ce qui m'obligeait à les appeler toutes les semaines pour faire les vérifications nécessaires. De plus, plusieurs producteurs ont administré un antibiotique à une taure sans prendre un échantillon des quartiers au préalable éliminant la possibilité d'utiliser ces sujets dans notre analyse. Finalement, les éleveurs n'ont pas inscrit les cas de mammite clinique observés chez les taures de l'étude durant les 2 premiers mois de l'étude empêchant une analyse de l'incidence de cas de mammite clinique.

La période où le traitement est effectué serait peut-être modifiée. En effet, une cinquantaine de taures ont vêlé avant ma première visite diminuant d'autant le nombre d'individus inclus dans l'étude. Une infusion de 14 à 21 jours précédant la date de vêlage permettrait probablement de limiter ce type de pertes. Par contre, la quantité de sécrétions mammaires prélevées serait peut-être encore plus faible rendant difficile la bactériologie du lait.

L'apparence des sécrétions et des trayons n'a pas été notée dans cette étude. Cependant, mon impression clinique ainsi que des publications récentes laissent croire que ces données seraient très intéressantes à évaluer puisqu'il y aurait une corrélation entre l'IIM et l'apparence des sécrétions.

Un plus grand nombre de taures incluses dès le départ par l'ajout de producteurs d'autres régions aurait permis d'améliorer la puissance statistique des analyses effectuées. Cependant, l'ajout de fermes plus éloignées implique des déplacements plus longs ou l'aide

d'un vétérinaire praticien ce qui aurait augmenté les coûts associés au projet et possiblement introduit une erreur de mesure en raison d'une variation individuelle dans la prise de données.

Il serait également intéressant dans l'avenir de traiter seulement les quartiers qui présentent un facteur de risque pré-établi ou une réaction au CMT. Cependant, ces facteurs de risque restent à établir ainsi que l'efficacité du CMT lors d'une telle utilisation en période pré-vêlage.

Conclusion

Le traitement antibiotique intra-mammaire à base de pirlimycine administré à des taures de 0 à 23 jours avant la date de leur premier vêlage a éliminé plusieurs infections présentes au moment du traitement et a diminué de manière significative la proportion d'infection intra-mammaire en début de lactation y compris pour *S. aureus*. Les infections intra-mammaires en période pré-vêlage et post-vêlage étaient causées, en ordre décroissant, par les SCN, *S. aureus*, les bactéries à Gram négatif et les levures, et les streptocoques. Pour l'ensemble des bactéries à Gram positif, le traitement a eu un effet curatif sur les infections intra-mammaires présentes avant le vêlage et un effet préventif sur les nouvelles infections intra-mammaires au vêlage. Le CCS n'a pas été affecté significativement par le traitement mais la production laitière a été augmentée de plus de 350 kg chez les taures traitées plus d'une semaine avant le vêlage.

Cette procédure est toutefois une utilisation en dérogation des directives et devrait être effectuée en toute connaissance de cause. De plus, on doit respecter rigoureusement les règles d'asepsie lors de l'infusion intra-mammaire car on peut provoquer de NIIM causées par des bactéries à Gram négatif ou des levures puisque la pirlimycine n'est pas un antibiotique efficace contre ces agents.

Dans une prochaine étude, une méthode diagnostique efficace en période pré-vêlage pour détecter une infection intra-mammaire ou des facteurs de risque associés à l'infection intra-mammaire devraient être identifiés afin d'évaluer l'effet d'un traitement antibiotique ciblé aux seuls quartiers infectés.

Bibliographie

1. Aaerstrup F.M., and N.E. Jensen. 1997. Prevalence and duration of intramammary infection in Danish heifers during the peripartum period. *J Dairy Sci.* 80: 307-312.
2. Akers R.M. 2002. *Lactation and the Mammary Gland*, Iowa State Press, Ames. 278 p.
3. Andrew S.M. 2001. Effect of composition of colostrum and transition milk from Holstein heifers on specificity rates of antibiotic residue tests. *J Dairy Sci*, 84: 100-106.
4. ASTLQ. 2002. *Amélioration de la Santé des Troupeaux Laitiers du Québec*, St-Hyacinthe.
5. Barto P.B., L.J. Bush, and G.D. Adams. 1982. Feeding milk containing *Staphylococcus aureus* to calves. *J Dairy Sci* 65: 271-274.
6. Boddie R.L., S.C. Nickerson, and W.E. Owens. 1987. Udder microflora in nonlactating heifers. *Agri-Practice* 8: 22-25.
7. Bray D.R., F. Elzinger, R.L.de la Sota, R.P. Natzke, P.A. Reed, and J.K. Shearer. 1989. Prevalence of infection in mammary quarters of nulliparous heifers and efficacy of intramammary infusion of antibiotics three weeks before parturition. *J Dairy Sci* 65 (Suppl): 20.
8. Buelow, K. L., W. J. Goodger, M. T. Collins, M. K. Clayton, K. V. Nordlund, and C. B. Thomas. 1996. A model to determine sampling strategies and milk inoculum volume for detection of intramammary *Staphylococcus aureus* infections in dairy cattle by bacteriological culture. *Preventive Veterinary Medicine.* 25: 3/4, 343-355.
9. Capuco A.V., M.J. Paape, and S.C. Nickerson. 1986. In vitro study of polymorphonuclear leukocyte damage to mammary tissues of lactating cows. *Am J Vet Res*, 47: 663-668.
10. Concha C. 1986. Cell types and their immunological functions in bovine mammary tissues and secretions—a review of the literature. *Nord Vet Med*, 38: 257-272.
11. Cook W.F., E.A. Fiez, and L.K. Fox. 1992. Mastitis in first lactation Southwest Idaho dairy cows. *J Dairy Sci* 75 (supp. 1): 158.
12. Daniel R.C.W., D.A. Barnum, and K.E. Leslie. 1986. Observations on intramammary infections in first calf heifers in early lactation. *Can Vet J* 27: 112-115.

13. Edinger D., B.A. Tenhagen, P. Kalbe, G. Klunder, B. Baumgartner, and W. Heuwieser. 2000. Effect of teat dipping with a germicide barrier teat dip in late gestation on intramammary infection and clinical mastitis during the first 5 days post-partum in primiparous cows. *J Vet. Med. A* 47: 463-468.
14. Erskine R. 2004. Philosophical approach to antibiotic therapy : Know the cow, bug and drug. *Proceedings of the annual meeting of the National Mastitis Council* : 8-11.
15. Fortin, M., S. Messier, J. Paré, R. Higgins. 2003. Identification of catalase-negative, non-beta-hemolytic, gram-positive cocci isolated from milk samples. *Journal of Clinical Microbiology*. 41:1, 106-109.
16. Fox L.K., A.A. Borm, K.E. Leslie, J.S. Hogan, S.M. Andrew, S.P. Oliver, Y.H. Schukken, W.E. Owens, and C. Norman. 2004. Effect of prepartum antibiotic therapy in heifers on milk production and mastitis postpartum. *NMC Annual Meetings Proceedings 2004*: 114-121.
17. Fox L.K., J.W. Hallberg, S.T. Chester, S.C. Nickerson, J.W. Pankey, and L.D. Weaver. 1995. Survey of intramammary infection in dairy heifers at breeding age and first parturition. *J Dairy Sci* 78: 1619-1628.
18. Fox L.K., L.C. Pritchett, D.D. Hancock, and E.A. Fiez. 1991. Milk somatic cell count (MSCC) linear score of first parity cows at first and last DHIA tests in Idaho. *J Dairy Sci* 74 (suppl 1): 241.
19. Fox L.K. and J.R. Roberson. 1993. Heifer mastitis: is it a problem? *NMC annual meeting proceeding*, pp: 187-195.
20. Hallberg J.W., K. J. Dame, S.T. Chester, C.C. Miller, L.K. Fox, J.W. Pankey, S.C. Nickerson, and L.J. Weaver. 1995. The visual appearance and somatic cell count of mammary secretions collected from primigravid heifers during gestation and early postpartum. *J Dairy Sci* 78: 1629-1636.
21. Harmon R.J., W.L. Crist, R.W. Hemken and B.E. Langlois. 1986. Prevalence of minor udder pathogens after intramammary dry treatment. *J. Dairy Sci.* 69: 843-849.
22. Harmon R.J., and B.F. Langlois. 1989. Mastitis due to coagulase-negative *Staphylococcus* species. *Agri-Practice* 10: 29.
23. Jensen D.L., and R.J. Eberhart. 1981. Total and differential cell counts in secretions of the nonlactating bovine mammary gland. *Am J Vet Res*, 42: 743-747.

24. Jonsson P., S.O. Olsson, A.S. Olofson, C. Falth, O. Holmberg, and H. Funke. 1991. Bacteriological investigations of clinical mastitis in heifers in Sweden. *J. Dairy Res.* 58: 179-185.
25. King J.O.L. 1967. The effect of mastitis on the yield and composition of heifers milk. *The Veterinary Record* 80: 139-141.
26. Knight C.H., and C.J. Wilde. 1987. Mammary growth during lactation: implications for increasing milk yield. *J Dairy Sci*, 70: 1991-2000.
27. Leong W.S., N. Navaratnam, M.J. Stankiewicz, A.V. Wallace, S. Ward, and N.J. Kuhn. 1990. Subcellular compartmentation in the synthesis of the milk sugars lactose and alpha -2,3-sialyllactose. *Protoplasma*, 159: 144-156.
28. Linde C. 1982. The effect of coagulase-negative staphylococci in the cow's udder on experimental induction of mastitis and on milk production. Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsola, Sweden.
29. Martin-Richard. 2001. Prevalence of mastitis in heifers and associated risk factors. *Proc. 3rd Symposium de Calidad de Leche y Seguridad Alimentaria.*
30. Matos J.S., D.G. White, R.J. Harmon, and B.E. Langlois. 1991. Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. *J Dairy Sci* 74: 1544-1549.
31. Matthews K.R., R.J. Harmon, and B.E. Langlois. 1992. Prevalence of *Staphylococcus* species during the periparturient period in primiparous, and multiparous cows. *J Dairy Sci* 75: 1835-1839.
32. Matthews K.R., R.J. Harmon, and B.E. Langlois. 1988. Use of latex teat dip with germicide during the prepartum period. *J Dairy Sci* 71: 1940-1946.
33. McDonald J.S., and A.J. Anderson. 1981. Total and differential somatic cell counts in secretions from noninfected bovine mammary glands: the peripartum period. *Am J Vet Res*, 42:1366-1368.
34. Meaney W.J. 1981. Mastitis levels in spring-calving dairy heifers. *Irish Vet J* 35: 205-209.
35. Mepham T.B. 1983. *Biochemistry of lactation*, Elsevier Press, New York. 198 p.
36. Mepham T.B. 1987. *Physiology of lactation*, Open University Press, Philadelphia. 203 p.
37. Miller R.H., M.J. Paape, and L.A. Fulton. 1991. Variation in milk somatic cells of heifers at first calving. *J Dairy Sci*, 74: 3782-3790.

38. Myllys V. 1995. Staphylococci in heifer mastitis before and after parturition. *J of Dairy Res* 62: 51-60.
39. Myllys V., and H. Rautala. 1995. Characterization of clinical mastitis in primiparous heifers. *J Dairy Sci* 78: 538-545.
40. Nickerson S.C., and R.L. Boddie. 1992. Prevalence of heifer mastitis in Northwest Louisiana. *Louisiana Cattlemen*, April, pp 2-3.
41. Nickerson S.C., W.E. Owens, and R.L. Boddie. 1995. Mastitis in dairy heifers: initial studies in prevalence and control. *J Dairy Sci* 78: 1607-1618.
42. NMC. 2004. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. 4th ed. NMC, Verona, WI.
43. Nordhaug M.L., L.L. Nesse, N.L. Norcross, and R. Gudding. 1994. A field trial with an experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. *J. Dairy Sci.* 77: 1267-1275.
44. Oliver S.P., B.E. Gillespie, S.J. Headrick, M.J. Lewis, and H.H. Dowlen. 2004a. Heifers mastitis: prevalence, risk factors and control strategies. *NMC Annual Meetings Proceedings 2004*: 83-99.
45. Oliver S.P., B.E. Gillespie, S.J. Ivey, M.J. Lewis, D.L. Johnson, K.C. Lamar, H. Moorehead, H.H. Dowlen, S.T. Chester, and J.W. Hallberg. 2004b. Influence of prepartum pirlimycin hydrochloride or penicillin-novobiocin therapy on mastitis in heifers during early lactation. *J Dairy Sci* 87: 1727-1735.
46. Oliver S.P., M.J. Lewis, B.E. Gillespie, and H.H. Dowlen. 1997a. Antibiotic residues and prevalence of mastitis pathogen isolation in heifers during early lactation following prepartum antibiotic therapy. *J. Vet. Med. B* 44: 213-220.
47. Oliver S.P., M.J. Lewis, B.E. Gillespie, and H.H. Dowlen. 1992. Influence of prepartum antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers during early lactation. *J Dairy Sci* 75: 406-414.
48. Oliver S.P., M.J. Lewis, B.E. Gillespie, and H.H. Dowlen. 1997b. Mastitis pathogen isolation in heifers throughout lactation following prepartum antibiotic treatment. *NMC Annual Meetings Proceedings 1997*, 254-255.
49. Oliver S.P., M.J. Lewis, B.E. Gillespie, H.H. Dowlen, E.C. Jaenicke, and R.K. Roberts. 2003. Prepartum antibiotic treatment of heifers: milk production, milk quality and economic benefit. *J Dairy Sci* 86: 1187-1193.

50. Oliver S.P., S.J. Ivey, M.J. Lewis, B.E. Gillespie, D.L. Johnson, K.C. Lamar, H. Moorehead, and H.H. Dowlen. 2000. Influence of prepartum intramammary infusion of pirlimycine hydrochloride or penicillin-novobiocin on mastitis in heifers during early lactation. NMC Annual Meetings Proceedings 2000, 223-224.
51. Oliver S.P., and B.A. Mitchell. 1983. Intramammary infections in primigravid heifers near parturition. J. Dairy Sci 66: 1180-1183.
52. Owens W.E., S.C. Nickerson, R.L. Boddie, G.M. Tomita, and C.H. Ray. 2001. Prevalence of mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy. J Dairy Sci 84: 814-817.
53. Owens W.E., S.C. Nickerson, P.J. Washburn, and C.H. Roy. 1991. Efficacy of a cephalirin dry cow product for treatment of experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis in heifers. J Dairy Sci 74: 3376-3382.
54. Owens W.E., and C.H. Ray. 1996. Therapeutic and prophylactic effect of prepartum antibiotic infusion in heifers. J. Vet. Med. 43: 455-459.
55. Paape M.J., H.D. Hafs, and W.W. Snyder. 1963. Variation of estimated numbers of milk somatic cells stained with Wright's stain or pyronin y-methyl green stain. J Dairy Sci, 46: 1211-1216.
56. Pankey J.W., P.A. Drechsler, and E. Wildman. 1991. Mastitis prevalence in primigravid heifers at parturition. J Dairy Sci 74: 1550-1552.
57. Peaker M. 1978. Ion and Water Transport in the Mammary Gland. Lactation, volume 4. Larson B.L., Academic Press, New York, p. 437-462.
58. Peaker M., and C.J. Wilde. 1996. Feedback control of milk secretion from milk. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 1: 307-315.
59. Rivas A.L., F.W. Quimby, J. Blue, and O. Coksaygan. 2001. Longitudinal evaluation of bovine mammary gland health status by somatic cell counting, flow cytometry, and cytology. J Vet Diagn Invest, 13: 399-407.
60. Roberson J.R., L.K. Fox, D.D. Hancock, and C.C. Gay. 1994. Coagulase-positive *Staphylococcus* intramammary infections in primiparous dairy cows. J Dairy Sci 77: 958-969.
61. Roberson J.R., L.K. Fox, D.D. Hancock, J.M. Gay, and T.E. Besser. 1998. Sources of intramammary infections from *Staphylococcus aureus* in dairy heifers at first parturition. J Dairy Sci 81: 687-693.

62. Schalm O.W. 1942. *Streptococcus agalactiae* in the udders of heifers at parturition traced to sucking among calves. Cornell Vet 32: 49-60.
63. Schultze W.D. 1985. Control of new intramammary infection at calving by prepartum teat dipping. J Dairy Sci 68: 2094-2099.
64. Sheerer J. K., and R.J. Harmon. 1993. Mastitis in heifers. Vet Clinics of North America vol 9, number 3: 583-595.
65. Smith B. P. 1996. Large animal internal medicine. Second ed. Mosby-Year Book Inc., St. Louis, MI.
66. Tenhagen B.A., D. Edinger, B. Baumgartner, P. Kalbe, G. Klunder, and W. Heuwieser. 2001. Efficacy of a herd-specific vaccine against *Staphylococcus aureus* to prevent post-partum mastitis in dairy heifers. J Vet. Med. A 48: 601-607.
67. Trinidad P., S.C. Nickerson, and T.K. Alley. 1990a. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. J Dairy Sci 73: 107-114.
68. Trinidad P., S.C. Nickerson, T.K. Alley, and R.W. Adkinson. 1990b. Efficacy of intramammary treatment in unbred and primigravid dairy heifers. JAVMA, 197: 465-470.
69. Trinidad P., S.C. Nickerson, and D.G. Luther. 1990c. Antimicrobial susceptibilities of staphylococcal species isolated from mammary glands of unbred and primigravid dairy heifers. J Dairy Sci 73: 357-362.
70. Villanueva, M. R., J. W. Tyler, and M. C. Thurmond. 1991. Recovery of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus aureus* from fresh milk and frozen bovine milk. JAVMA. 198: 8, 1398-1400.
71. Vlieghe S.D., H. W. Barkema, H. Stryhn, H. Laevens, I. Dohoo, G. Opsomer, and A. Kruijff. 2004. Impact of early lactation somatic cell count from Belgian dairy heifers on udder health and production during the subsequent first lactation. NMC Annual Meetings Proceedings 2004: 100-110.
72. Waage S., T. Mork, A. Rosos, D. Aasland, A. Hunshamar, and S.A. Odegaard. 1999. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. J. Dairy Sci. 82: 712-719.
73. Waage S., S.A. Odegaard, A. Lund, S. Brattgjerd, and T. Rothe. 2001. Case-control study of risk factors for clinical mastitis in post-partum dairy heifers. J. Dairy Sci. 84: 392-399.

74. Waage S., S. Sviland, and S.A. Odegaard. 1998. Identification of risk factors for clinical mastitis in dairy heifers. *J Dairy Sci.* 81: 1275-1284.
75. Watts J.L., S.A. Salmon, R.J. Yancey, S.C. Nickerson, L.J. Weaver, C. Holmberg, J.W. Pankey, and L.K. Fox. 1995. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary gland of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 78 : 1637-1648.

Annexe 1

Nom du troupeau, numéro de la taure, groupe de traitement et raison du retrait autre que les données manquantes des pertes au suivi.

Troupeau	Taure	Groupe ¹	Raison du retrait
Laberge	130	T	Mauvais échantillon
Pionald	177	T	Mauvais échantillon
Laberge	131	C	Mauvais échantillon
Régiduc	126	C	Abandon du projet
Gaudette	59	T	Échantillon > 14 jours
Devol	421	T	Échantillon > 14 jours
SCH	46	C	Échantillon > 14 jours
Cardin	89	C	Échantillon > 14 jours
JPS	Wynona	T	Mortalité
Leduché	65	C	Mortalité
Maskita	6793	C	Mortalité
Leduché	316	T	Rétention placentaire
Pionald	191	C	Rétention placentaire
Maskita	6769	T	Césarienne
Maskita	6780	C	Césarienne
Maskita	6788	C	Césarienne
MRD	84	C	Césarienne
Leduché	74	T	Antibiotique cause inconnue
Morissette	90	T	Antibiotique cause inconnue
Bujoule	68	T	Antibiotique cause inconnue
Rainville	8	T	Antibiotique cause inconnue
Chagnon	132	C	Antibiotique cause inconnue
SCH	49	C	Antibiotique cause inconnue
Graveline	143	C	Antibiotique cause inconnue
MRD	91	C	Antibiotique cause inconnue
Chagnon	122	C	Antibiotique cause inconnue
Demers	23	C	Antibiotique cause inconnue
Cyjohn	69	T	Mammite
Bujoule	21	T	Mammite

Maskita	6767	T	Mammite
Demers	27	C	Mammite
Demers	28	C	Mammite
JPS	Venus	C	Mammite
Beauregard	36	C	Mammite
Laflamme	140	C	Mammite
Laflamme	149	C	Mammite
Maskita	6774	C	Mammite
Cardin	30	C	Mammite
Bréniel	147	C	Mammite
Graveline	15	C	Mammite
Leduché	303	C	Mammite

¹T = groupe traité, C = groupe contrôle.

