

Découvrez les plus récents développements de la recherche sur la mammite au Canada

# Le RCRMB vous donne la primeur sur ses plus récents développements en recherche sur la mammite

À mi-chemin dans le programme du Réseau canadien de recherche sur la mammite bovine (RCRMB), nos recherches commencent déjà à produire des résultats intéressants. Certains projets aboutiront sur de nouvelles technologies à long terme alors que d'autres génèrent des connaissances utiles dès maintenant. Grâce à ces avancées et à nos efforts pour transférer les nouveaux outils et les nouvelles connaissances, nous espérons observer des changements dans les pratiques de gestion de la santé du pis à la ferme dans les années à venir.

Pour ce faire, les médecins vétérinaires, les divers conseillers et les enseignants du

secteur laitier sont des alliés naturels pour transférer les nouvelles connaissances issues de la recherche aux producteurs laitiers. C'est donc d'abord à ces personnes que s'adresse ce document de transfert des connaissances.

Ce journal fait suite à la brochure « Cultivez les connaissances pour du lait de qualité » parue en 2008. Forts du succès de cette première publication, nous vous proposons cette année un document tout aussi informatif dans un nouveau format convivial de type « journal ».

Pendant que vous lisez tranquillement votre journal « Quoi de neuf en recherche sur la mammite?», les chercheurs du RCRMB continuent à développer des stratégies et des technologies qui vous appuieront dans votre travail auprès des producteurs laitiers. Nous en aurons donc encore beaucoup à vous raconter dans une prochaine édition de ce journal. C'est un rendez-vous!

D'ici là, nous vous souhaitons une bonne lecture et un bon travail de transfert de connaissances aux producteurs laitiers qui vous entourent.

L'équipe de RCRMB

# Le RCRMB, c'est: 13 partenaires financiers 3 donateurs et commanditaires 35 membres et collaborateurs 7 chercheurs postdoctoraux étudiants diplômés 8 étudiants du premier cycle 19 techniciens



# Les producteurs et les vaches du Canada contribuent à la recherche sur la mammite

Une mine d'or d'échantillons et de données épidémiologiques est depuis peu à la disposition des experts pour dresser le portrait réel de la situation de la mammite au Canada et trouver des solutions à ce problème important.

Grâce à une équipe multidisciplinaire répartie dans quatre laboratoires et quatre centres régionaux de collecte au Canada (Figure 1), le RCRMB possède aujourd'hui une banque de données centrale unique au monde. Cette banque de données est une ressource inestimable pour les chercheurs en quête de solutions au problème de la mammite dans les fermes laitières.

Pour constituer cette banque de données. l'équipe du RCRMB a misé sur une imposante infrastructure dont l'organe vital est la Cohorte nationale des fermes laitières. Outre le personnel impliqué, le succès de cette aventure repose grandement sur les efforts fournis par les producteurs participants. En plus de recevoir la visite régulière d'un technicien et de contribuer à la collecte d'échantillons de lait, les producteurs ont dû se plier à de nombreux interrogatoires en règle pour recueillir tous les détails de leur gestion.

On a par exemple sondé le type de logement des vaches, la litière utilisée, la fréquence des nettoyages et les méthodes de traite. Même les vaches ont dû montrer leurs

Les chiffres de la Cohorte :

**91** fermes laitières représentatives de l'industrie laitière

9 000 vaches, principalement Holstein

 $130 \,\, 000 \,\, \text{échantillons}$ de lait soumis à une culture bactérienne

17 000 isolats bactériens archivés dans un congélateur à très basse température à la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal à Saint-Hyacinthe.

700 échantillons de poils pour constituer une banque d'ADN pour la recherche sur la génétique

trayons, pattes et flancs aux techniciens du RCRMB pour une évaluation de leur état et de leur propreté. Toutes ces informations seront associées aux infections diagnostiquées dans chaque ferme et aux bactéries isolées dans les échantillons fournis.

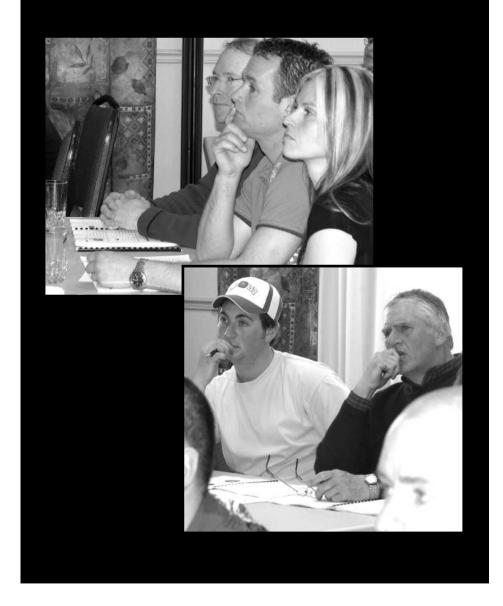
Grâce à une entente de collaboration avec Valacta et CanWestDHI, les données de production de chaque vache enrôlée dans la Cohorte - production, âge, jours en lait, nombre de lactations, comptage des cellules somatiques, etc. - sont également accessibles aux chercheurs et aux étudiants du RCRMB. Toutes les données liées à la santé des vaches et les médicaments utilisés ont aussi été compilées pour une étude sur la résistance aux antibiotiques.

Les formations aux producteurs de la cohorte ont eu lieu dans les provinces de l'Île-du-Prince-Édouard, Nouvelle-Écosse, Nouveau-Brunswick, Québec (photo), Ontario et Alberta.



#### Les producteurs de la Cohorte sur les bancs d'école

Pour les remercier de leur contribution et les récompenser de leurs efforts, six formations sur les récentes connaissances acquises au sein du RCRMB ont été présentées aux participants de la cohorte au printemps 2009. Grâce aux échantillons récoltés sur leurs fermes pendant deux ans, chaque producteur a pu prendre connaissance de la situation de la mammite sur sa ferme au moyen d'un rapport de troupeau personnalisé. De plus, comme les résultats étaient présentés pour la ferme, la province et le pays, les participants ont pu comparer leur situation à celle de leurs pairs canadiens.



#### Figure 1. Répartition des activités de la Plateforme centrale de recherche et des activités de recherche du RCRMB au Canada

#### LÉGENDE



Centre régional



Laboratoire sur la mammite



Souchothèque

- Centre de recherche du pacifique Agassiz
- University of Calgary
- University of Saskatchewan
- Vaccine and Infectious Disease Organization (VIDO)
- University of Guelph (Ontario Veterinary College)
- Agence de santé publique du Canada Université de Guelph (Kemptville Campus)
- Université Laval

- 9- Université McGill
- Université de Montréal (Faculté de médecine vétérinaire)
- Université de Sherbrooke
- Centre de recherche et de développement
- sur le bovin laitier et le porc Sherbrooke University of Prince Edward Island (Atlantic Veterinary College)



# Le portrait actuel de la mammite au Canada

L'analyse des échantillons de la Cohorte nationale des fermes laitières du RCRMB nous permet de brosser le portrait actuel de la mammite à travers le pays. Il s'agit de l'exercice du genre le plus précis et le plus détaillé jamais effectué chez nous. Fini le temps où il fallait extrapoler les données de recherche menées dans d'autres pays. On sait maintenant ce qui se passe réellement chez nous.

#### La mammite clinique

Typiquement, on observe qu'à chaque lactation, au moins une vache sur cinq souffre de mammite clinique. En d'autres mots, cela signifie que dans un troupeau de 100 vaches, 20 d'entre elles démontreront des symptômes apparents de mammite au cours d'une année. Selon les données de la Cohorte nationale des fermes laitières du RCRMB, le taux d'incidence de la mammite clinique s'élève précisément à 28 % au Québec, 22 % en Alberta et 36 % dans les Maritimes et en Ontario.

Nos données montrent également que le taux de mammite clinique est généralement plus élevé dans les fermes à stabulation entravée comparativement aux fermes à stabulation libre.

alors qu'un autre producteur l'interprétera comme tel.

Toutefois, l'hypothèse la plus plausible pour expliquer une telle différence entre les troupeaux de notre province réside probablement dans l'application des pratiques de gestion de la santé du pis.

#### Les bactéries qui causent la mammite clinique

Partout au Canada, les mêmes bactéries sévissent, mais pas dans les mêmes proportions. Toutes ces bactéries peuvent être contrôlées à l'aide de différentes pratiques de

Quand on analyse les échantillons de lait provenant de vaches avec des symptômes de

C'est plutôt des bactéries de l'environnement qui causent problème dans l'Ouest, les principaux coupable étant *E. coli* et les streptocoques environnementaux. Au Québec, dans les Maritimes et en Ontario, bien que moins importantes que S. aureus, ces mêmes bactéries causent des ravages considérables. Les Strep. uberis, Strep. dysgalactiae (une bactérie autant considérée environnementale que contagieuse), les autres Strep. spp. et E. coli

se présentent chacun dans plus ou moins 8 % des cas de mammite clinique.

Il est toutefois important de préciser qu'E.coli est la bactérie qui se manifeste le plus souvent dans les cas de mammite avec des symptômes plus sévères (31 % des cas de mammite clinique sévère). De plus, il est généralement admis que les E.coli sont probablement en cause dans une part importante des mammites cliniques où aucun agent pathogène n'a pu être identifié ("pas de croissance significative") puisque ces bactéries sont souvent éliminées rapidement par le système immunitaire de la vache.

# Tableau 1. Répartition des agents pathogènes

Agents pathogènes	Québec	Ontario	Maritimes	Alberta
S. aureus	17,8	15,4	13,4	5,9
E. coli	7,5	11,6	8,9	16,0
Strep. spp.	8,3	9,6	5,0	8,2
Strep. uberis	7,5	1,8	9,2	3,8
Strep. dysgalactiae	7,9	3,2	5,9	1,0
SCN	2,3	4,5	1,3	3,1
Klebsiella	1,3	0,9	2,9	8,0
Autres	6,5	6,5	4,3	7,4
Contaminés	11,6	9,7	8,5	10,7
Pas de croissance	29,4	36,7	40,6	35,9

Selon les données de la Cohorte nationale

des fermes laitières du RCRMB, le taux

s'élève précisément à 28 % au Québec,

d'incidence de la mammite clinique

22 % en Alberta et 36 % dans les

Maritimes et en Ontario.

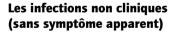
par région (%)

La variation d'un troupeau à l'autre est beaucoup plus grande que la variation entre les provinces pour la mammite clinique. Par exemple, les données de la cohorte démontrent un écart entre les troupeaux de 3 à 110 cas par 100 vaches par année. Les meilleurs et les pires 25 % de ces troupeaux varient environ de 15 à 39 cas par 100 vaches par année.

Naturellement, une partie de cette variation peut être expliquée par les différences d'interprétation des cas de mammite par les producteurs et leur tenue de dossier. Par exemple, un producteur peut juger que la présence de simples grumeaux dans le lait ne correspond pas à une mammite clinique

mammite, l'organisme le plus commun dans les fermes québécoises est S. aureus dans 17,8 % des cas. Ce pourcentage de *S. aureus* est le plus élevé au Canada, suivi par l'Ontario (15,4 %) et les provinces Maritimes (13,4 %) (tableau 1).

S. aureus est une bactérie de nature contagieuse c'est-à-dire qu'elle se propage d'une vache à l'autre. Elle est une ennemie coriace et donne du fil à retordre aux producteurs du Ouébec. Les producteurs de l'Alberta semblent toutefois avoir trouvé les bons moyens pour la garder en respect. En fait, S. aureus n'est pas la bactérie qui cause le plus de problèmes aux Albertains. On ne le retrouve que dans 5,9 % des échantillons de mammite clinique.



Même en l'absence de signes visibles de la mammite, les infections intramammaires causent l'augmentation du CCS ainsi que des pertes de production importantes, et ce principalement à cause des dommages causés aux cellules sécrétoires de la glande mammaire.

Toujours dans les fermes de la Cohorte du

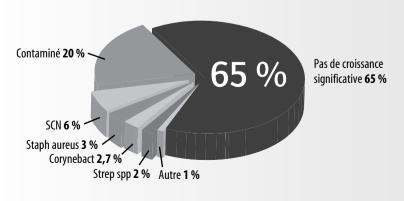
RCRMB, on estime que près d'un quartier sur cinq (18 %) est infecté par des agents pathogènes de la mammite. Toutefois, moins d'un demi-pourcent de ces quartiers présentent des symptômes apparents comme un lait anormal (grumeaux, flocons, lait aqueux), de l'enflure ou de la fièvre.

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont le plus souvent impliqués dans les infections intramammaires non cliniques, suivies par leur proche cousin S. aureus, particulièrement dans les fermes du Québec. La tendance est sensiblement la même à l'échelle nationale sauf en Alberta où les Corynebacterium suivent plutôt les SCN et où S. aureus est beaucoup moins important.

#### Les infections au tarissement

Nos analyses ont permis d'évaluer la proportion des vaches affectées par une infection intramammaire au début et à la fin de la période de tarissement. À travers le pays, les staphylocoques à coaqulase négative sont sans aucun doute les bactéries les plus prévalentes en période de tarissement (figure 2). Viennent ensuite les *S. aureus* et Corynebacterium dans des proportions

Figure 2. Prévalence des infections au tarissement par agent pathogène au Canada



(...) on estime que près d'un quartier sur cinq (18 %) est infecté par des agents pathogènes de la mammite.

#### Le portrait actuel de la mammite au Canada (suite)

similaires. Nous avons également déterminé la proportion des nouvelles infections qui surviennent au cours de la période de tarissement. Pour ce faire, il a suffit d'analyser les échantillons prélevés immédiatement après le vêlage chez les vaches exemptes d'infection au début du tarissement (figure 3).

À travers le Canada, le taux moyen de nouvelles infections intramammaires au tarissement s'élève à 17 % des quartiers. En clair, cela signifie que pour 100 quartiers sains à tarir (disons environ 25 vaches), on peut s'attendre ce que 17 d'entre eux révèleront une nouvelle infection au vêlage. On observe differents taux à travers les régions canadiennes. Les troupeaux de l'Ouest se situent directement sur la movenne nationale tandis que ceux de l'Ontario la dépassent légèrement. Au Québec et dans les Maritimes, les vaches taries semblent un peu mieux protégées contre les nouvelles infections en cours de tarissement puisque les taux se situent sous la barre canadienne.

Pour ce qui est des vaches déjà infectées avant le tarissement, on estime qu'en moyenne 74 % des quartiers infectés guériront avant le vêlage à l'échelle canadienne (figure 4). On attribute ce taux de guérison à l'utilisation répandue du traitement au tarissement.

#### Infections en cours de lactation

Durant la lactation, les SCN et les corynébactéries sont celles qui causent le plus de nouvelles infections (figure 5). S. aureus évolue un peu différemment car il demeure longtemps dans le pis causant ainsi les infections chroniques qui sont si ennuyeuses. Même si les vaches n'attrappent pas beaucoup de nouvelles infections à S. aureus, la longue durée de ces infections leur donne une impression de plus grande prévalence à la ferme.

Il est aussi intéressant de noter que tous les agents pathogènes les plus prévalents sont des microorganismes qui vivent sur la peau des trayons et qui sont donc à proximité, prêtes à déclencher une infection. Ils sont également, exception faite de *S. aureus*, des agents pathogènes moins virulents qui ne provoquent habituellement pas la mammite clinique ni de fortes hausses du CCS.

# Figure 3. Taux des nouvelles infections intramammaires durant la période de tarissement par région

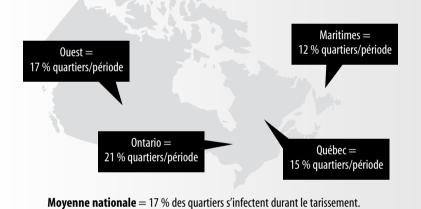


Figure 4. Taux de guérison des infections intramammaires au tarissement par région

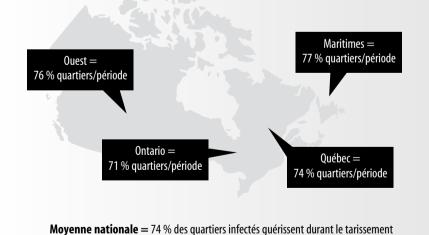
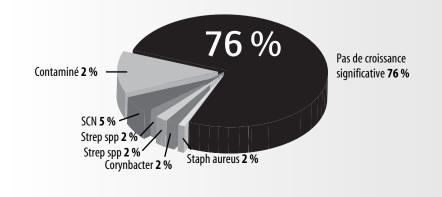


Figure 5. Prévalence des infections en cours de lactation

par agent pathogène au Canada



## Que doit-on retenir de la situation actuelle de la mammite au Canada?

Donc, que faut-il garder à l'esprit quand on songe à la situation de la mammite au Canada? Tout d'abord, les quelque 134 000 échantillons de lait prélevés dans le cadre de la Cohorte nous permettent de brosser un tableau tout à fait fidèle de la situation de la mammite à travers le pays – et avoir une emprise solide sur ce qui se passe véritablement constitue un excellent point de départ. Nous sommes maintenant en mesure d'estimer les causes de la mammite clinique au plan régional et de nous pencher sur les différences observées pour tenter d'avancer des hypothèses raisonnables. Une découverte surprenante a été faite; bien que nous nous attendions à recenser peu d'infections chez les vaches en lactation présentant un profil clinique normal et chez les vaches avant le tarissement et après le vêlage, nous avons relevé des incidences relativement élevées de certaines infections, surtout causées par des agents pathogènes secondaires comme les staphylocoques à coagulase négative et les *Corynebacterium spp*.

Nous constatons que *S. aureus* figure parmi les trois premiers agents pathogènes dans toutes les étapes de la lactation et dans les cas de mammite clinique et subclinique – il y a encore fort à faire dans la lutte contre ce microorganisme! Pour leur part, les



producteurs de l'Ouest canadien semblent mieux se débrouiller contre cet agent pathogène prendre connaissance de facteurs de gestion précis pour lutter contre la mammite va nous permettre de combattre plus efficacement de tels agents pathogènes. Le traitement pour vaches taries semble efficace afin de soigner les infections intramammaires pendant le tarissement et demeure une pratique fortement recommandée. Mais comme toujours, il y a toujours moyen de chercher à améliorer le tableau en réduisant le nombre de nouvelles infections survenant à la ferme et en réduisant la durée de ces infections. Nous allons continuer à collaborer avec vous afin de trouver d'autres moyens pour y arriver!

# Les vidéos du RCRMB

#### Le CMT : un outil simple et efficace

Ce vidéoclip d'une durée d'environ 5 minutes présente les étapes de la réalisation d'un CMT pour la détection rapide de la mammite. En deux temps trois mouvements, vous voilà renseigné sur la présence d'un infection du pis chez Josette!

À l'aide de la réponse obtenue, vous pourrez alors prendre la décision qui s'impose. Rapide, simple et efficace, un outil à découvrir ou à redécouvrir!

Gratuit I

Voyez ce vidéoclip en ligne au www.reseaumammite.org, Section La mammite : ressources en ligne / Boîte à outils, dès aujourd'hui!

B A P B B

# Répondre aux questions existentielles de la mammite

La mammite soulève plusieurs questions auxquelles les chercheurs n'ont pas encore réponse, faute de données pertinentes. Heureusement, au RCRMB, ce problème n'existe plus! Grâce à la création d'une banque de données étoffée à l'image de notre industrie, tous les espoirs sont maintenant permis!

Kristen Reyher est médecin vétérinaire et étudiante au doctorat au Collège vétérinaire de l'Atlantique de l'Université de l'Iledu-Prince-Édouard, sous la direction de l'éminent épidémiologiste Ian Dohoo. La banque de données du RCRMB, créée à partir des résultats de la Cohorte nationale des fermes laitières, représente pour elle l'occasion rêvée de répondre à plusieurs hypothèses liées à la dynamique de la mammite.

À l'aide de modèles mathématiques complexes, tel un **réseau de neurones artificiels**, Kristen entame l'étude des inte-ractions entre les quartiers sains et les quartiers affectés d'une même vache et entre les différentes bactéries de la mammite.

Ses travaux permettront entre autre de développer des protocoles pratiques pour le diagnostic de la mammite à partir d'informations facilement disponibles dans les fermes. Voici quelques exemples des questions existentielles de la mammite auxquelles Kristen pourra répondre à la fin de ses recherches



#### Est-ce qu'un échantillon composite est aussi pertinent que l'échantillon d'un seul quartier pour prédire les infections du pis?

À tous les mois, un échantillon de lait individuel est prélevé chez toutes les vaches d'un troupeau lors du contrôle laitier. Comme le lait des quatre quartiers est mélangé, il s'agit d'un échantillon composite. Cet échantillon pourrait-il servir à prédire avec précision le statut infectieux du pis d'une vache? Quelle serait la sensibilité et la spécificité d'une telle pratique diagnostique? Seront-elles les mêmes pour chaque bactérie en cause? Selon les résultats de cette recherche, les médecins vétérinaires pourraient disposer de nouvelles stratégies diagnostiques peu coûteuses, facilement accessibles et surtout très utiles pour faciliter le suivi de santé du pis dans un troupeau.



### Les infections causées par des bactéries mineures protègent-elles les vaches des mammites plus sévères?

Les agents pathogènes majeurs sont bien adaptés à la glande mammaire et ils sont responsables des principaux cas de mammite. Les agents pathogènes mineurs peuvent également causer des mammites, mais les dommages sont généralement moins importants.

Les chercheurs émettent l'hypothèse que le système immunitaire, stimulé par cette première infection, pourrait être plus efficace à combattre une prochaine infection causée par une bactérie majeure. Dans un même ordre d'idée, il est permis de penser qu'une vache atteinte d'une infection causée par une bactérie majeure a plus de chance de développer une infection subséquente causée par une bactérie mineure. Jusqu'à maintenant, aucune étude n'a permis d'élucider ces questions, mais les données de la Cohorte nous permettent d'espérer enfin une réponse.

Agents pathogènes mineurs Staphylocoques à coagulase négative		
		Corynebacterium spp.



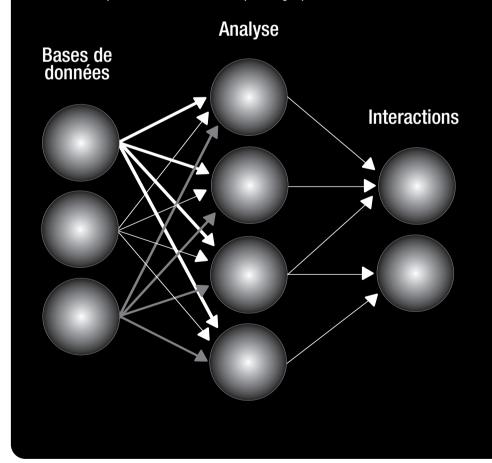
#### Est-ce que la présence d'une infection dans un quartier influence le risque de développer une autre infection dans un autre quartier?

En utilisant les échantillons recueillis au tarissement, au vêlage et lors de périodes intensives de collecte, Kristen évaluera s'il existe un rapport entre les infections d'un ou plusieurs quartiers chez une même vache. Interagissent-ils entre eux ou sont-ils vraiment quatre entités indépendantes l'une de l'autre? On a toujours cru que les quartiers du pis faisaient chacun leur petite affaire de leur côté. mammaire, ce qui le mettrait sur un pied d'alerte pour les infections subséquentes. Toutefois, les résultats d'une étude récente menée par un autre chercheur du RCRMB, Herman Barkema, laissent croire qu'un quartier infecté rend les autres plus susceptibles à une infection. Mais qu'en est-il vraiment? Intriquant...



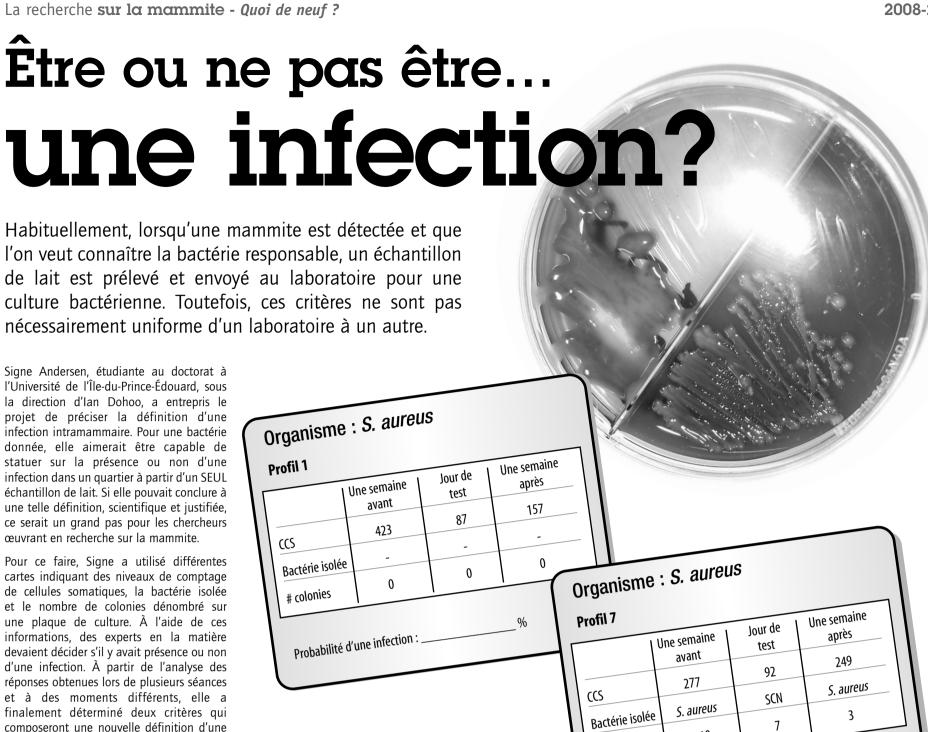
#### Un réseau de neurones artificiel

Un réseau de neurones artificiel est un modèle de calcul dont la conception est largement inspirée du fonctionnement de vrais neurones. Les réseaux de neurones sont généralement optimisés par des méthodes d'apprentissage de type statistique si bien qu'ils se classent dans la famille des applications statistiques, mais aussi dans la famille des méthodes d'intelligence artificielle. Ces réseaux peuvent être utilisés pour étudier les liens et patrons de relation existant entre plusieurs groupes de données.



#### Impacts à la ferme

Mieux comprendre la dynamique de la mammite et mettre au point des stratégies encore plus efficaces pour diagnostiquer les infections intramammaires, voilà deux objectifs bien ambitieux entrepris dans le cadre de ce projet. Les réponses obtenues seront fort utiles et ce, à plusieurs niveaux : à la communauté scientifique pour mieux orienter les recherches futures et pousser plus loin nos connaissances sur cette maladie, et aux médecins vétérinaires et producteurs dont le défi sera d'intégrer ces nouvelles connaissances dans leur stratégie de lutte contre la mammite.



# Le seul site dédié à la mammite au Canada!

# www.reseaumammite.org

Le site web du RCRMB regorge d'information de pointe sur

Bien que loin du plancher des vaches, cette

recherche pourrait être fort utile pour les

laboratoires de diagnostic mais surtout pour la

communauté scientifique afin d'harmoniser les

recherches sur la mammite et d'être capable de

comparer des pommes avec des pommes!

- Des articles de référence
- Des fiches techniques illustrées

infection d'un quartier.

d'un échantillon unique.

Cette définition qu'elle nomme « pseudo -

gold standard », est actuellement mise à

l'épreuve en utilisant les échantillons de lait

récoltés en 2007 auprès de la CNFL.

Elle comparera également la valeur d'un

échantillon en duplicata et triplicata à celle

- Un recueil des chroniques mammite publiées dans le Producteur de lait québécois & The Milk Producer
- Des trucs simples et efficaces pour contrôler la mammite
- Les derniers résultats des projets de recherche du RCRMB et même des recettes... pour maîtriser l'art de la traite ou du CMT ou encore, de la prise d'un échantillon de lait.

www.reseaumammite.org, un site unique au Canada, bilingue, convivial et qui ne traite que d'un seul sujet : la mammite!

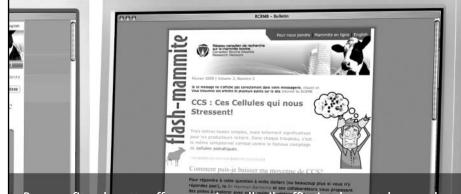
# **OFFRE SPÉCIALE UN ABONNEMENT MENSUEL GRATUIT!**

# colonies

Probabilité d'une infection : \_

#### Mensuel électronique Flash-mammite

Aucun représentant ne viendra vous voir, aucun appel téléphonique inopportun durant votre souper! Dans le confort de votre foyer, lisez en toute quiétude notre mensuel électronique Flash-mammite! Résultats de recherche, évènements, trucs pratiques et références utiles, voilà autant d'informations qui vous seront acheminées tous les mois sans aucun engagement de votre part et ce, tout à fait gratuitement!



Pour profiter de cette offre sensationnelle, il suffit simplement de consulter le www.reseaumammite.org, et s'inscrire au Bulletin électronique du RCRMB ou encore, envoyer un courriel à Julie Baillargeon, agente de transfert au RCRMB au julie.baillargeon@umontreal.ca. Le RCRMB, une diversité d'information à portée du doigt!

# L'impact des pratiques de gestion sur l'incidence des infections du pis

À ce jour, nos connaissances sur le sujet sont essentiellement basées sur des études de prévalence. Dans ce type d'étude, on ne présente que le portrait d'une situation à un moment précis. On pourrait par exemple conclure à une association entre le port des gants durant la traite et la réduction du risque de transmission des bactéries pathogènes. Par contre, on ne pourrait déterminer si les gants aident à prévenir l'apparition des nouvelles infections. Cette information est pourtant cruciale puisque c'est par la prévention des nouvelles infections qu'on peut réellement espérer contrôler la mammite dans un troupeau.

Pour ce faire, des études d'incidence sont nécessaires. Toutefois, ce type de recherche nécessite d'importantes ressources et est donc rarement concrétisé.

Grâce à l'infrastructure mise en place dans le cadre de la Cohorte nationale des fermes laitières du RCRMB, une étude de cette envergure est maintenant possible.

Simon Dufour, médecin vétérinaire et étudiant au doctorat à la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal, sous la direction du Dr Daniel Scholl, a amassé une multitude de données concernant les pratiques de gestion courantes, le type de ferme et le contrôle de la mammite à l'aide d'un questionnaire détaillé chez 88 fermes de la Cohorte. En parallèle, quatre séries d'échantillons de lait

#### Quelle est la différence entre l'incidence et la prévalence de la mammite à la ferme?

#### **Prévalence**

C'est la mesure de la présence de la mammite à un moment précis dans un troupeau. On collecte des échantillons de lait sur un groupe ou sur la totalité des vaches puis on les analyse à l'aide de la culture bactérienne et du comptage cellulaire. Cela équivaut à prendre une photo du troupeau à un jour X.

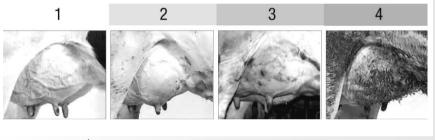
#### Incidence

C'est la mesure de la présence de la mammite dans un troupeau pour une durée déterminée. On collecte des échantillons de lait sur une période de temps donnée afin de connaître l'arrivée des nouvelles infections et leur durée. La photo du troupeau change à tous les jours.

Plusieurs pratiques de gestion sont reconnues comme étant efficaces pour prévenir et contrôler la mammite. Toutefois, il est présentement impossible de déterminer hors de tout doute lesquelles fonctionnent le mieux, dans quelles conditions et pour quelle bactérie. Grâce à l'analyse des données du RCRMB, les chercheurs seront bientôt en mesure d'orienter les producteurs vers les pratiques les plus appropriées selon les différentes situations.

#### Figure 6. Une condition gagnante : la propreté!

Un pis ayant une **cote de 3** a trois fois plus de risque d'acquérir une infection Un pis ayant une **cote de 4** a sept fois plus de risque d'acquérir une infection



Source: RCRMB / Fiche Évaluation de la propreté des vaches. Crédit photos : " Moins de mammite, Meilleur lait " (Pierre Lévesque, 2004), distribué par la Fédération des producteurs de lait du Québec.

ont été récoltés sur des périodes intensives de trois semaines en 2007 et en 2008 afin de déceler la présence d'infections subcliniques.

En procédant à l'association des données du questionnaire et celles des résultats de cultures bactériennes des échantillons de lait, il sera bientôt en mesure de démontrer quelles pratiques de gestion ont un effet significatif sur l'apparition des nouvelles infections du pis et pour quelles bactéries. En empêchant l'apparition de nouvelles infections, l'impact à la ferme sera plus grand et de plus longue durée comparativement aux traitements antibiotiques ou la réforme qui sont des options de courte durée

#### Impacts à la ferme

Ce projet ciblera les pratiques de gestion les plus efficaces pour prévenir l'apparition de nouvelles infections subcliniques, et plus spécifiquement par bactérie. Ces nouvelles connaissances guideront les médecins vétérinaires et les producteurs laitiers vers de nouvelles stratégies de gestion de la mammite à la ferme en utilisant des données généralement disponibles telles que le CCS de la vache et du réservoir, les données

de production de la vache et la bactériologie. L'adoption à grande échelle de ces pratiques pourrait avoir un impact significatif sur la diminution de l'incidence de la mammite dans les fermes canadiennes.

#### PRIMEUR

Même si cette étude est toujours en cours, nous avons pensé qu'il serait intéressant de vous présenter un aperçu des premiers résultats d'analyse. Ces résultats chauds, chauds, concernent les infections du pis causées par les staphylocoques à coagulase négative (SCN).

Les SCN sont des agents pathogènes mineurs de la mammite, mais ce sont ceux qui sont le plus souvent responsables des nouvelles infections. Quatre-vingt dix-sept pourcent des troupeaux de la Cohorte sont infectés par les SCN.

Bien que ces infections soient souvent de courte durée, la fréquence des nouvelles infections causées par les SCN est si élevée qu'une proportion importante du comptage des cellules somatiques (CCS) du troupeau peut être attribuée à ce type de mammite.

En général, chaque quartier présent sur une ferme laitière sera infecté 1,4 fois par année

par un SCN. Sur certaines fermes, l'incidence des infections du pis causées par les SCN est de plus de 4 infections par quartier par année. En général, ces infections sont de courte durée : en moyenne 2 semaines.

Ce groupe de bactéries semble donc suivre un cycle rapide d'infection-guérisonnouvelle infection, ce qui fait qu'en tout temps de l'année, on peut s'attendre à avoir près de 6 % des quartiers du troupeau présentant une infection à SCN.

#### Comment prévenir les nouvelles infections à SCN?

Parmi les pratiques de gestion utilisées sur les fermes laitières de la Cohorte, la gestion de la litière des logettes est fortement associée à l'apparition des infections à SCN. Sur les fermes où le fumier est raclé hors des logettes au moins 3 fois par jour, le risque d'une nouvelle infection à SCN dans un quartier est 1,5 fois plus faible. De même, la litière de sable permet de réduire de moitié le risque d'une nouvelle infection à SCN en comparaison avec les autres types de litière. Une tendance est également observée pour les fermes où on ajoute de la litière fraîche au moins 2 fois par jour puisque cette pratique diminue le risque d'une infection à SCN est 1,4 fois.

L'apparition de nouvelles infections à SCN est aussi fortement associée à la propreté des vaches, il semblerait donc que toute pratique permettant d'améliorer la propreté générale des vaches, comme la gestion de la litière par exemple, pourrait potentiellement réduire le risque d'infection à SCN (Figure 6).

Évidemment, on peut aisément assumer que l'instauration de telles pratiques de gestion aura également un impact intéressant sur la prévention des infections intramammaires causées par plusieurs autres types de bactérie.



# Le tarissement : ce n'est pas une période de tout repos!

Les infections du pis acquises au cours du tarissement sont difficiles à diagnostiquer et tendent à diminuer la production laitière subséquente. Quelle est la fréquence des nouvelles infections causées par les différentes bactéries durant le tarissement? Quelles sont les pratiques les plus efficaces pour les prévenir? Voilà l'essentiel de l'étude dont il est question ici.

Près de 50 % de ces infections sont causées par des bactéries environnementales et peuvent être prévenues seulement par l'utilisation d'un traitement antibiotique au tarissement. D'ailleurs, l'utilisation d'un tel traitement a virtuellement éliminé certaines bactéries pathogènes majeures comme par exemple, *Streptococcus agalactiae*. Aussi, une baisse de près de 80 % des infections causées par les staphylocoques à coagulase négative (SCN) a été observée suite à l'utilisation d'un traitement antibiotique au tarissement chez les troupeaux de la Cohorte nationale des fermes laitières du RCRMB.

Afin d'étudier la fréquence des nouvelles infections du pis durant le tarissement, Chris Calloway, étudiant au doctorat à l'Université de l'Île-du-Prince-Édouard, sous la direction d'Ian Dohoo, a fait prélever des échantillons de lait, composite et quartier individuel, et à différentes périodes autour du tarissement : 14 et 30 jours, 0 et 14 jours avant le tarissement et, 24 à 48 heures, 7 à 14 jours après le vêlage chez 15 vaches de chaque ferme participant à la Cohorte. Tous ces échantillons ont été envoyés au laboratoire pour une culture bactérienne afin de déceler toute trace de mammite.

À travers le Canada, les bactéries retrouvées le plus souvent dans ces échantillons étaient :

- Staphylocoques à coagulase négative;
- Staphylococcus aureus;
- Corvnebacterium bovis;
- Streptocoques environnementaux;
- Et rautres bactéries à Gram positif.

Dans le cadre de cette étude, le taux de guérison et l'incidence des nouvelles infections du pis durant le tarissement ont été calculées par quartier. Chris a également procédé à plusieurs analyses par ferme qui tiennent compte des bactéries en cause, de la gestion et de l'alimentation des vaches, du type de logement, et de l'utilisation du traitement au tarissement et des scellants à trayons. Une étude économique a été réalisée en regard des coûts et des bénéfices de l'utilisation du traitement au tarissement.

Chris rédige présentement sa thèse de doctorat et soumettra des articles scientifiques dans lesquels nous pourrons bientôt prendre connaissance des résultats de son étude. À suivre!

Les scellants à trayons internes diminueraient le risque d'une nouvelle infection du pis durant le tarissement de près de 50 %!

Une méta-analyse réalisée par Chris Calloway sur les effets de l'utilisation des scellants à trayons internes, avec ou sans antibiotique comparé à l'antibiothérapie seule ou aucun traitement, estime que les scellants internes diminuent le risque d'une nouvelle infection du pis durant le tarissement de près de 50 % (entre 33 et 75 % selon les études).





administrer un traitement intramammaire, comme par exemple les antibiotiques au tarissement

# La prévention de la mammite en images!

En collaboration avec des médecins vétérinaires, le RCRMB a créé une série de 9 fiches techniques illustrées à l'intention des producteurs laitiers et des divers intervenants en santé du pis. Ces fiches sont destinées à être utilisées directement à la ferme pour servir de guide dans l'application des meilleures pratiques de gestion en santé du pis. Abondamment illustrées et contenant des explications simples, elles peuvent servir de matériel de formation de premier choix!

Ces fiches sont disponibles en ligne au www.reseaumammite.org dans la section La mammite : ressources en ligne, en format PDF à imprimer ou à consulter. Elles sont :

Évaluation de la propreté des vaches, Les étapes de la traite, Le test de mammite de Californie (CMT), Technique d'échantillonnage du lait pour l'analyse bactériologique, Technique d'administration d'un traitement intramammaire chez les bovins laitiers, Technique d'injection pour les bovins laitiers, Observation de la conformation du système mammaire, Les anomalies des trayons, Grille de l'évaluation de l'état des trayons.



# Immuniser la glande mammaire contre la mammite, un défi de taille

En 2006, Brian Talbot, chercheur à l'Université de Sherbrooke a réussi à réduire la durée d'une mammite causée par *S. aureus* grâce à un vaccin expérimental à base d'ADN de la bactérie. Malheureusement, ces résultats n'ont pu être reproduits de façon concluante chez les vaches jusqu'à maintenant.



Le chercheur poursuit toujours les mêmes objectifs, mais cette fois avec des protéines recombinantes comme antigènes. En 2007, il a recherché chez *S. aureus* les protéines qui présentaient la plus grande capacité à produire une forte réponse immunitaire et il en a trouvé quatre. Après les avoir isolées et purifiées, ces quatre protéines antigènes ont effectivement produit la réponse recherchée chez des souris puis, chez des vaches. Malheureusement, la réponse immunitaire bovine a été détectée dans le système sanguin principal, mais très peu dans la glande mammaire. Le vaccin n'a donc pas permis une protection contre les infections dans le pis.

Ces réponses n'ont pas découragé Brian Talbot. Même si cette recherche est terminée dans le cadre du programme de recherche du RCRMB, il poursuit ses travaux en se concentrant sur l'immunité obtenue par ces quatre protéines. Lorsque cet aspect sera bien contrôlé, il planifie revenir à une double immunisation – protéines puis ADN – en combinaison avec un adjuvant très performant. Il se penchera également sur de nouvelles façons d'administrer le vaccin afin d'en accroître l'efficacité.

#### Le partage des connaissances, le fondement du Réseau

De plus, toutes ses connaissances seront mises à profit par une collaboration à un autre projet du RCRMB, soit celui portant sur la découverte de gènes de virulence chez la bactérie *S. aureus* piloté par François Malouin, chercheur de l'Université de Sherbrooke au Québec. Ensemble, ils évalueront la réponse immunitaire générée par l'administration de ces nouveaux antigènes chez des souris et, le plus important, l'effet protecteur suite à l'induction d'une infection intramammaire.

Deux autres projets portant sur les vaccins contre la mammite sont en cours au RCRMB. L'enjeu majeur dans ce domaine n'est pas seulement la recherche du meilleur antigène mais aussi la formulation appropriée et le mode d'administration optimal pour maximiser la réponse du système immunitaire.

#### Contre la mammite à S. aureus

La plupart des vaccins contre *S. aureus* sont formulés avec des adjuvants traditionnels et administrés par injection sous-cutanée ou intramusculaire à des endroits éloignés de la glande mammaire. Les chercheurs Andrew Potter et Jose Perez-Casal du *Vaccine and Infectious Disease Organization* sont à la recherche de nouvelles stratégies pour accroître l'efficacité de ces vaccins :

- Formulation de nouveaux adjuvants,
- · Nouvelles routes d'administration et
- Antigènes plus spécifiques.

La combinaison de ces composantes a la capacité d'amplifier la réponse immunitaire chez les bovins, ce qui allonge la durée de la protection et réduit la nécessité d'administrer un ou des rappels.

Depuis 2006, leurs travaux ont permis d'identifier la protéine GapC/B comme un antigène démontrant une excellente réponse immunitaire chez la vache laitière. Dans la dernière année, ce même antigène, administré en différentes quantités, a été utilisé pour comparer l'efficacité d'un vaccin administré par voie souscutanée versus une administration sans aiguille. Les résultats ont démontré que le vaccin contenant 10 fois moins d'antigènes et administré sans aiguille était aussi efficace que le vaccin administré à dose conventionnelle par voie sous-cutanée.

Dans la prochaine année, les chercheurs se concentreront sur l'augmentation de la réponse immunitaire par la mise au point de nouvelles formulations de vaccin en collaboration avec Brian Talbot. Ces nouvelles formulations visent à prolonger l'immunité et à diminuer la fréquence de la vaccination.

#### Contre la mammite à coliformes

Depuis décembre 2008, Xin Zhao de l'Université McGill a pris la relève de Grant Tomita, anciennement de l'Université de Montréal, pour diriger les travaux de recherche d'un nouveau vaccin contre la mammite à coliformes.

Il existe déjà deux vaccins commerciaux contre la mammite à coliformes au Canada. La recherche a démontré que ces deux vaccins sont utiles pour réduire la sévérité et la durée des cas de mammite clinique causés par *E. coli*.

Toutefois, ces vaccins nécessitent 2 ou 3 doses de rappel pour parvenir à une production d'anticorps suffisante. Cela représente une surcharge de travail et des coûts supplémentaires pour les producteurs. Pour contrer ce problème, Grant Tomita a eu l'idée d'utiliser la microencapsulation des antigènes J5 qui forment le vaccin.

Autrement dit, par un procédé de laboratoire relativement simple, les antigènes se retrouvent emprisonnés dans des micro-billes de polymère. Une fois administrées à l'animal, ces billes se biodégradent et favorisent une libération progressive des antigènes après une seule injection.

Le vaccin prototype présente des résultats prometteurs car il a stimulé une réponse immunitaire comparable aux vaccins commerciaux actuels chez les animaux vaccinés. La prochaine étape sera de procéder à des essais d'infection chez des vaches et à vérifier l'efficacité de la nouvelle formulation du vaccin chez ces vaches. Des pourparlers sont en cours avec le milieu biomédical pour transférer ce vaccin à un partenaire commercial et des démarches ont été entamées pour protéger la propriété intellectuelle de la technologie. Un dossier à suivre!

#### Immunologie 101

Le système immunitaire a plusieurs cartes dans sa manche quand vient le temps de se défendre contre un envahisseur. Les deux modes de défense principaux sur lesquels les chercheurs axent leurs travaux sont la production d'anticorps et l'immunité cellulaire.

## La production d'anticorps

Lorsqu'une bactérie étrangère s'aventure chez un hôte, elle est analysée par le système immunitaire et ce dernier fabrique ensuite des anticorps qui élimineront la bactérie. Ainsi, un vaccin qui contient des parties de la bactérie ou la bactérie tuée, prépare le système immunitaire à reconnaître rapidement la bactérie pathogène en lui donnant la chance de fabriquer en avance des anticorps spécifiques. Lorsque la bactérie envahit l'hôte, elle est rapidement happée par les anticorps et détruite par les neutrophiles sans le moindre symptôme. Les neutrophiles sont une des cellules qui causent une hausse du comptage cellulaire du lait lors d'une mammite.

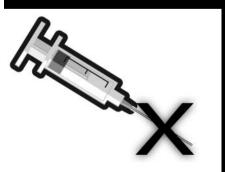
#### L'immunité cellulaire

Il arrive que la bactérie pathogène soit cachée dans une cellule ce qui rend les anticorps inefficaces car ils ne peuvent se fixer à la bactérie. Le système immunitaire active alors l'immunité cellulaire, une seconde ligne de défense impliquant des cellules tueuses. Ces cellules tueuses peuvent reconnaître l'antigène de la bactérie s'il n'est pas complètement caché dans la cellule. Elles détruisent alors toute la cellule et une partie de son environnement, ce qui cause de l'inflammation.

Voilà pourquoi il est important de bien identifier l'antigène de la bactérie afin que le système immunitaire active les armes correspondantes.

## Qu'est-ce qu'un adjuvant?

En immunologie, un adjuvant est une substance qui stimule le système immunitaire et accroît la réponse à un vaccin mais sans avoir de propriété antigénique.



# Injection sans aiguille. Comment ça marche?

Une seringue spécialement conçue pour cet usage est tenue contre la peau. En l'activant, elle force un liquide à passer au travers un très petit orifice. Le jet ultra fin créé par cette très forte pression pénètre la peau sans utiliser d'aiguille.

# RECHERCHÉES:

# Bactéries coupables de causer la mammite

Lorsqu'un crime est commis, on parvient souvent à dévoiler l'identité du coupable grâce aux traces d'ADN laissées sur la scène du crime. Bientôt, les bactéries de la mammite seront traitées en vraies criminelles puisqu'il existe de nouveaux tests PCR spécialement conçus pour les démasquer. Les médecins vétérinaires et les producteurs laitiers auront donc l'occasion de jouer à Columbo et disposeront potentiellement d'un puissant nouvel outil diagnostic pour la gestion de la mammite.



La technique utilisée pour analyser l'ADN des bactéries est l'amplification en chaîne par polymérase, mieux connue sous son acronyme anglais : PCR. Certains laboratoires offre le service PCR pour le diagnostic de la mammite depuis quelques années déjà, mais les tests disponibles ne permettent d'identifier qu'une seule bactérie à la fois et sont plus coûteux que la culture bactérienne traditionnelle.

Toutefois, de nouveaux tests PCR permettant d'identifier plusieurs agents pathogènes en même temps font depuis peu leur apparition sur le marché. On les appelle PCR multiplexe. Pour la plupart, ces tests permettent même de mesurer la quantité de bactéries dans l'échantillon. Dans ce cas, on dit du PCR qu'il est en temps réel. En laboratoire, ces tests sont très efficaces et offrent une avenue prometteuse dans le diagnostic de la mammite. Néanmoins, leur sensibilité et leur spécificité réelles sur le terrain sont encore méconnues.

Le Dr Daniel Scholl, directeur scientifique du Réseau canadien de recherche sur la mammite et professeur en épidémiologie à la Faculté de médecine vétérinaire, a donc décidé de remédier à la situation et a initié un projet d'envergure visant à valider trois trousses PCR commercialisées ou sur le point de l'être (voir Tests PCR au banc d'essai).

Dans ce projet, le Dr Scholl et son équipe proposent d'évaluer la fiabilité des tests PCR en évaluant les pourcentages de résultats faux négatifs (sensibilité) et de faux-positifs (spécificité). Autant l'un que l'autre a un impact important à la ferme car un mauvais diagnostic peut générer une décision de gestion inappropriée.

Pour ce faire, le Dr Scholl et son équipe dispose d'une quantité phénoménale d'échantillons prélevés dans les 91 troupeaux de la Cohorte nationale des fermes laitières du RCRMB. Cette Cohorte fournit une excellente représentation de la

# Une protéine dans le lait qui protège contre la mammite clinique à coliformes

Les symptômes ou signes visibles d'une mammite causée par des coliformes sont principalement dus à la réponse du système immunitaire de la vache aux toxines produites par les bactéries. Une de ces toxines se nomme la lipopolysaccharide (LPS), ou endotoxine. Lors d'une infection, les LPS se multiplient rapidement dans la glande mammaire et pour les détruire, les globules blancs produisent une protéine spéciale appelée CD14. Cette protéine CD14 s'attache aux LPS ce qui neutralise leur effet toxique.

Les résultats d'une recherche réalisée aux États-Unis ont suggéré que le développement d'un produit à base de CD14 pourrait être efficace pour prévenir l'apparition des infections mammaires causées par *E. coli* durant le tarissement. Cette prémisse a vivement intéressé le chercheur Xin Zhao

de l'Université McGill au point d'entreprendre le projet de vérifier cette hypothèse. Une réponse positive pourrait ouvrir la porte à la sélection de vaches secrétant naturellement de cette protéine en plus grande quantité ou à l'administration de celle-ci comme traitement.

Malgré plusieurs essais pour déterminer s'il existe des relations entre la quantité de CD14, la présence ou l'absence de bactéries dans le lait et le comptage des cellules somatiques, Xin Zhao n'a pu tirer de résultats concluants sur les effets béné-fiques de la protéine CD14. Comme l'hypothèse de recherche n'a pas pu être assez clairement démontrée pendant les trois premières années du projet, les activités de ce projet au sein du RCRMB sont maintenant terminées.

### Signes visibles de la mammite

Selon les recherches du RCRMB, les cas de mammite clinique chez les vaches de la CNFL se sont manifestés de la façon suivante :

51 % des cas

anormalités de l'apparence du lait (flocons, grumeaux, lait aqueux)

38 % des cas pis enflés, rougeur, chaleur

11 % des cas signes systémiques (fièvre)

#### Sensibilité et spécificité : c'est quoi la différence?

La sensibilité d'un test est sa capacité à donner un résultat positif lorsqu'il y a réellement présence de la bactérie dans l'échantillon de lait.

**La spécificité** est la capacité d'un test à donner un résultat négatif lorsque l'échantillon est exempt de la bactérie recherchée.

Plus les valeurs de sensibilité et de spécificité sont élevées, plus le test sera efficace à nous communiquer la présence ou l'absence réelle de la bactérie dans l'échantillon.

population laitière canadienne. Ainsi, les résultats de l'étude auront l'avantage d'être directement applicable dans le contexte de nos fermes. De plus, on dispose d'échantillons prélevés chez des vaches souffrant de mammite clinique (avec des symptômes) ainsi que de vaches en lactation sans symptôme apparent.

Il n'existe pas de méthode de diagnostic parfaite pour détecter les bactéries de la mammite dans le lait. La bonne vieille culture bactériologique, celle qu'on utilise normalement pour analyser les échantillons que vous envoyez au laboratoire, fait office de méthode de référence (gold standard). Ainsi, tous les échantillons prélevés dans le cadre de la Cohorte ont d'abord été soumis à une culture bactérienne et ces résultats seront ensuite comparés avec ceux des analyses PCR.

Comme cette technologie est nouvellement offerte sur le marché pour le diagnostic de la mammite, ce projet propose d'évaluer sa fiabilité en calculant les pourcentages de résultats dits « faux-positifs » (spécificité - identification exacte de l'ADN de la bactérie) et « faux négatifs » (sensitivité identification de la bactérie même si elle est morte ou s'il y a d'autres bactéries). Autant l'un que l'autre a un impact important à la ferme car un mauvais diagnostic peut générer un traitement antibiotique inapproprié ou encore une absence de traitement ce qui aura également des conséquences fâcheuses pour l'animal.

#### Où en est-on?

Présentement, 1 765 cas de mammite clinique sont en cours d'analyse par les différents équipements PCR. Par la suite, 4 000 échantillons de lait récoltés chez des vaches en lactation en apparence saine seront analysés. Dans ces derniers, peut-être trouverons-nous des infections qui n'avaient pas été détectées par la culture bactérienne? Aurons-nous enfin un moyen de « voir » la mammite subclinique? Les quatre bactéries recherchées dans ces échantillons sont les suivantes : Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Escherichia coli et Streptococcus agalactiae.

Tous les résultats sont attendus pour l'automne 2010. En parallèle, les chercheurs regarderont s'il existe une association entre ces deux paramètres et le stade de lactation au moment de l'échantillonnage, le comptage des cellules somatiques, le délai entre la prise de l'échantillon et la réalisation de l'analyse, le profil infectieux du troupeau et la présence d'autres bactéries.

#### Impacts à la ferme

Grâce à la banque d'échantillons de lait générée par la CNFL, seul le RCRMB peut réaliser ce projet unique et d'envergure. Dès le début 2011, les résultats révèleront l'exactitude de ces nouveaux équipements pour le diagnostic de la mammite ce qui pourrait grandement intéresser les laboratoires de diagnostic. Du côté de la ferme, le diagnostic précis et rapide des mammites cliniques et subcliniques aura un impact majeur sur les décisions de gestion en santé du pis.

#### Tests PCR au banc d'essai

#### DairyGuard™ de SafeGuard Biosystems Inc., Canada

Ce système est capable d'identifier plusieurs bactéries dans un seul échantillon de lait. Il n'est pas encore disponible sur le marché.

#### PathoProof Mastitis PCR™ de Finnzymes Oy, Finlande

Ce système détecte 11 différentes bactéries ou groupes de bactéries. Il est commercialisé depuis trois ans.

#### Multiplex Real-Time PCR, University of Tennessee, Knoxville, É-U

C'est un test PCR mis au point par le Dr Stephen Oliver de l'University of Tennessee. Il permet l'identification simultanée de quatre bactéries majeures de la mammite en temps réel et c'est pourquoi on le nomme « Multiplex Real-Time PCR».

#### Un PCR, comment ça marche?

Trois éléments sont requis pour un test PCR : un tube PCR (petite éprouvette résistante à la chaleur), différents réactifs et une source de chaleur<sup>2</sup>. Aussi peu de 70 µL de lait infecté sont requis pour un test PCR. Cette infime gouttelette de lait est d'abord soumise à une réaction enzymatique qui brise les cellules des bactéries présentes afin de libérer leur ADN ou code génétique. Les brins d'ADN sont ensuite purifiés et mis dans un tube PCR. On doit ensuite ajouter :

- deux réactifs qui prédéterminent la séquence de gènes à multiplier (ce qui nous permet de cibler la bactérie recherchée)
- des nucléotides (A, C, G, T) qui forment le code génétique de l'ADN, et;
- une enzyme, la polymérase ADN, qui est capable de lire le code génétique de la bactérie et de reconstruire des copies de la séquence de gènes recherchée.

Ce mélange est ensuite soumis à plusieurs cycles consécutifs - chauffage et temps d'attente - ce qui produit la multiplication de la séquence des nucléotides. L'identification de la séquence multipliée peut être confirmée par un logiciel conçu à cet effet ou d'autres procédures de laboratoire.

# La culture bactérienne aux poubelles?

La culture bactérienne est un outil utile et efficace pour la détection des bactéries mais elle a ses lacunes. Une concentration trop faible de bactéries dans l'échantillon à analyser ainsi qu'un mauvais choix de milieu de culture peut donner un résultat de « non croissance ». Dans certains cas, d'autres cultures ou tests doivent parfois être réalisés pour faire la distinction entre deux

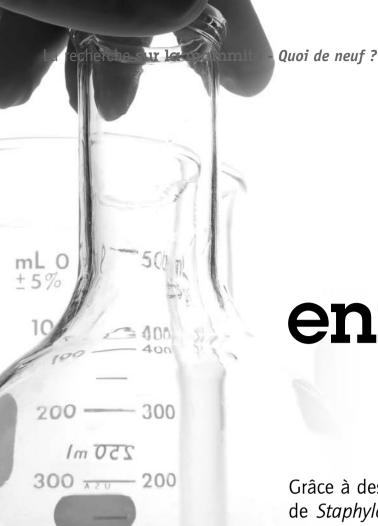
bactéries similaires. La contamination de l'échantillon de lait à la ferme¹ ou au laboratoire est possible et conduit à un mauvais diagnostic (4 à 20 % des échantillons). De plus, le temps d'incubation engendre un certain délai et donc les résultats tardent à parvenir à la ferme. Cependant, le coût d'une culture bactérienne est présentement plus abordable qu'un test PCR et cette méthode est offerte par tous les laboratoires de diagnostic au pays.

Les tests PCR promettent de compenser les lacunes de la culture bactérienne et offriront de nouvelles avenues pour la recherche et pour la gestion de la mammite au sein d'un troupeau. Toutefois, la culture bactérienne demeure un outil accessible et fort pertinent dans les programmes de santé du pis à la ferme.



#### Références

- 1. Fiche illustrée du RCRMB à consulter : Technique d'échantillonnage du lait pour l'analyse bactériologique. www.reseaumammite.org dans la section Boîte à outils.
- 2. Le *Genetic Science Learning Center* de l'*University of Utah* a développé le site web « Learn.Genetics™ » qui propose des démonstrations animées pour plusieurs techniques de laboratoire et accessibles pour les étudiants, les professeurs et le grand public. http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/pcr/



### Staphylococcus aureus

# Connaître son ennemi pour mieux le combattre

Grâce à des techniques de laboratoire sophistiquées, on sait maintenant que les souches de *Staphylococcus aureus* ne sont pas toutes identiques et que le potentiel infectieux de la bactérie varie d'une souche à l'autre. Autrement dit, la capacité à augmenter le CCS, la contagiosité, la résistance aux traitements antibiotiques ou encore la capacité à causer des infections chroniques ou cliniques n'est pas la même selon la souche en cause dans une infection. La caractérisation et l'identification des facteurs de virulence propres à ces souches permettraient de développer de nouveaux vaccins, traitements et outils diagnostiques.

C'est par l'examen de 240 souches de 5. aureus provenant de la Souchothèque que l'équipe de François Malouin, chercheur à l'Université de Sherbrooke, a découvert des associations intéressantes entre la présence ou l'absence de certains gènes chez S. aureus et la mammite clinique, la mammite subclinique et la formation de biofilm. Après avoir infecté expérimentalement plusieurs vaches à l'aide de différentes souches, ils ont procédé à l'analyse des gènes de virulence exprimés par celles-ci. Ils ont découvert que plusieurs de ces gènes étaient exprimés en commun chez des bactéries causant des mammites chroniques.

#### Impacts à la ferme

Tous les gènes impliqués dans la virulence ne sont pas encore connus. Cependant, deux d'entre eux, découverts par l'équipe du Dr Malouin, font présentement l'objet de deux déclarations d'invention. Ces gènes représentent de nouvelles cibles thérapeutiques pour le développement de vaccins ou d'antibiotiques pour combattre la mammite à *S. aureus*. Grâce à ces percées, nous connaîtrons davantage notre ennemi et nous serons bientôt mieux armés que lui pour le combattre.

#### Staphylococcus aureus dans une infection intramammaire

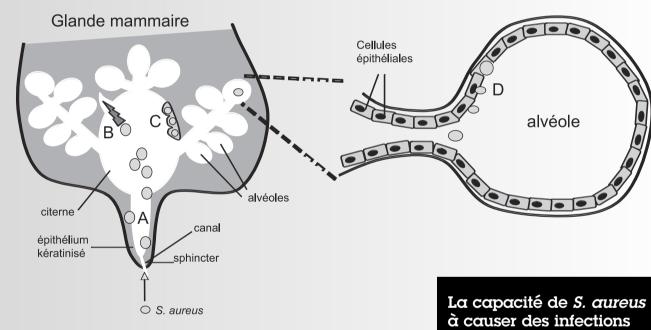


Illustration : LE PRODUCTEUR DE LAIT QUEBECOIS JUILLET/AOÜT 2009 page 32

#### L'ennemi fait son nid dans le pis

La capacité de *S. aureus* à causer des infections intramammaires représente un formidable exemple d'adaptation d'un microorganisme à son environnement. Voici en quelques lignes comment elle s'y prend. La première étape d'une infection à *S. aureus* est l'adhésion. La bactérie pénètre la glande mammaire et s'y attache (A). Pour ce faire, elle exprime, au début de sa croissance, des protéines nommées

adhésines. Celles-ci reconnaissent les composantes de la glande, se lient à elles et permettent à *S. aureus* de s'y attacher. La bactérie peut ainsi se multiplier sans craindre d'être éliminée lors de la traite.

intramammaires

représente un formidable

exemple d'adaptation

son environnement.

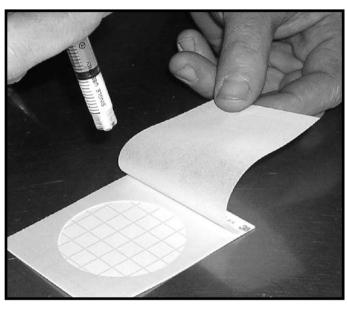
d'un microorganisme à

Lorsque les bactéries sont en nombre suffisant, elles produisent alors des facteurs de virulence (toxines) qui détruisent les tissus de la glande pour en tirer des nutriments et pour se multiplier sur d'autres sites (B). À cette étape, le système immunitaire de l'animal est déjà en action pour combattre l'infection en cours. Les symptômes apparaissent alors et nous voilà devant une mammite clinique.

La bactérie possède une panoplie de gènes de virulence codant pour des facteurs qui neutralisent le système immunitaire de la vache. Par exemple, la protéine A et la capsule produites par *S. aureus* déjouent les anticorps et les cellules immunitaires de la vache et les empêchent d'être efficaces. La bactérie possède aussi des mécanismes qui lui permettent de se protéger des antibiotiques. Ainsi, *S. aureus* peut produire une matrice qu'on appelle biofilm et qui peut entourer et protéger les bactéries (C). *S. aureus* a également la capacité de pénétrer dans les cellules de la glande mammaire et de se cacher des antibiotiques et du système immunitaire (D).

# Validation d'un système d'identification des bactéries de la mammite à la ferme

Le traitement approprié pour la mammite clinique est une préoccupation constante autant pour le médecin vétérinaire que le producteur de lait. L'administration de certains antibiotiques pourrait ne pas être justifiée en raison de leur piètre efficacité contre certaines bactéries, telles que les coliformes, mais aussi à cause du taux élevé de quérison spontanée de certaines mammites. De plus, l'usage d'antibiotiques engendre une période de retrait du lait qui occasionne une perte économique pour la ferme.



Le recours à des outils de diagnostic rapide pour l'identification des bactéries pathogènes pourrait bien représenter une option éclairée et contribuer à la réduction de l'usage des antibiotiques pour le traitement de la mammite sans compromettre le taux de guérison. Voilà le défi relevé par l'équipe de Greg Keefe, médecin vétérinaire et épidémiologiste à l'Université de l'Île-du-Prince-Édouard et réalisé par les Drs Jennifer McCarron, étudiante à la maîtrise et Kimberley MacDonald, étudiante au doctorat.

#### Un traitement assigné au hasard

Les techniciens du RCRMB ont enrôlé 54 fermes de la CNFL dans six provinces pour participer à la validation d'un outil de diagnostic rapide à la ferme : le système Petrifilm<sup>MC</sup>. Ce système avait d'abord été sélectionné lors d'une première phase de ce projet.

Pour chaque cas de mammite de sévérité 1 ou 2, le producteur devait choisir aléatoirement entre la mise en culture du lait avec le test Petrifilm<sup>MC</sup> ou le traite-

> ment antibiotique. Une vache souffrant d'une mammite de sévérité 3 avec signes visibles et une température rectale de plus de 39,5 °C était soignée immédiatement selon le protocole de la ferme. Un peu plus de 800 cas de mammite clinique ont été retenus pour cette étude.

Les résultats préliminaires de ces essais montrent une diminution de près de 45 % de l'utilisation des antibiotiques pour les cas soumis à la culture

bactérienne en comparaison du groupe traité immédiatement aux antibiotiques. On note aussi que le lait de ces vaches a été vendu en moyenne 1,5 jour plus tôt que celui des vaches du groupe traité immédiatement et que le coût de la culture bactérienne à la ferme serait moindre ou égal à celui du traitement antibiotique. Plusieurs paramètres économiques restent encore à calculer et à comparer avec les méthodes standards.

Au cours du projet, l'équipe de recherche a aussi travaillé à la création d'une trousse de culture bactérienne qui est maintenant à la disposition des producteurs et médecins vétérinaires qui souhaiteraient s'en servir (www.milkquality.ca).





#### Un tout nouvel outil pour lutter contre la mammite et relever le défi d'une meilleure santé du pis au sein des troupeaux laitiers du Canada.

Cette trousse destinée aux médecins vétérinaires propose une démarche d'intervention innovatrice et personnalisée en 5 points :

- 1. Évaluation
- 4. Traite
- 2. Traitement
- 5. Résistance et période de transition
- 3. Pression d'infection

Développée grâce à une vaste consultation d'experts canadiens et internationaux, cette trousse contient du matériel didactique prêt à l'emploi et facile à intégrer à la pratique quotidienne. Elle se présente sous forme d'un cartable et d'une clé USB incluant :

Des fiches pratiques illustrées en couleur Des feuillets d'information Des outils de calcul

Des questionnaires d'évaluation Des vidéos et bien plus...

#### Pour plus d'information, veuillez consulter le www.reseaumammite.org.

La Trousse vétérinaire TACTIC Santé du pis est présentement disponible en français. Une version anglaise est en préparation.

De la mammite? Alors à vos trousses!

# La mammite clinique

Légère (1)

Pis normal

**☑** Lait anormal

Vache normale

Modérée (2)

**☑** Lait anormal Pis anormal

☐ Vache normale

Sévère (3)

**☑**Lait anormal Pis anormal

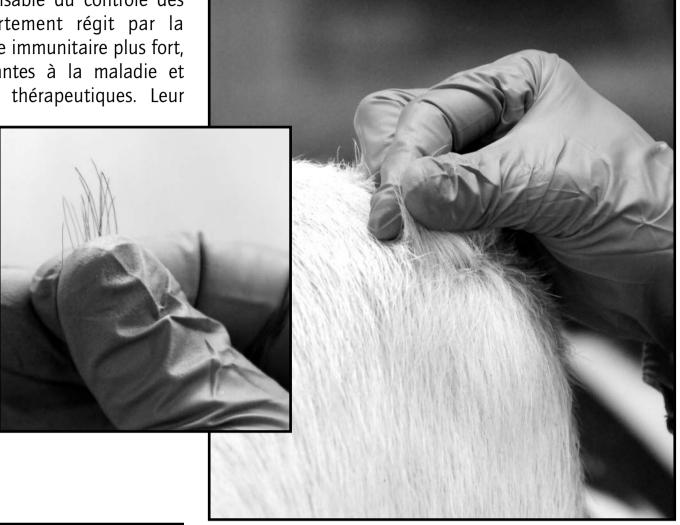
**☑** Vache anormale

# Repérer les vaches ayant une meilleure défense immunitaire face aux bactéries de la mammite

Le système immunitaire est responsable du contrôle des maladies infectieuses et est fortement régit par la génétique. Ainsi, grâce à un système immunitaire plus fort, certaines vaches sont plus résistantes à la maladie et nécessitent moins d'interventions thérapeutiques. Leur

système immunitaire les protège des agents infectieux incluant les bactéries causant la mammite.

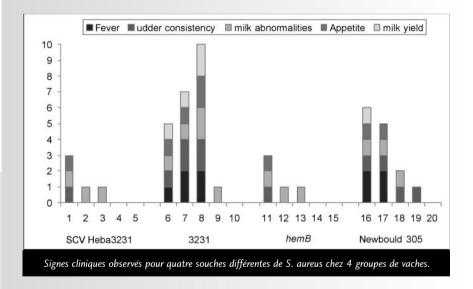
À l'aide de protocoles d'immunisation, Bonnie Mallard, chercheur en immunogénétique à l'Université de Guelph a caractérisé l'ADN de près de 700 vaches provenant de 58 troupeaux de la Cohorte nationale des fermes laitières du RCRMB et les a classé en deux populations : forte résistance et faible résistance à la maladie. Cette précieuse information lui a ensuite permis de découvrir plusieurs gènes et protéines qui régissent la résistance à la maladie ainsi que certains paramètres de production tels que le comptage des cellules somatiques, la persistance en lait et le rendement en lait et en protéine. Actuellement, les génotypes de 500 taureaux de race Holstein, 100 de race Jersey et 70 de race Guernsey sont en voie d'être complétés pour vérifier leur association avec divers paramètres de santé et de production.



#### Les bénéfices de cette recherche sont :

- La capacité de déceler les vaches résistantes dans les troupeaux commerciaux;
- Le développement de la valeur d'élevage estimée (VÉE) pour une meilleure santé des troupeaux, d'où la possibilité de sélectionner les vaches résistantes à la maladie;
- La détermination des gènes et des protéines reliés à des paramètres de production;
- Le soutien au développement de vaccins efficaces;
- La détection de la mammite par certaines protéines contenues dans le lait.

Pour mieux caractériser cette souche nommée SCV Heba3231, ainsi que trois autres souches de *S. aureus* ont été inoculées chez quatre groupes de cinq vaches cliniquement saines.



#### Une souche de S. aureus bien spéciale

En parallèle à la recherche de gènes de résistance, Bonnie Mallard et Heba Atalla, étudiante au doctorat à l'Université de Guelph, se sont demandées pourquoi les vaches atteintes de mammite causée par *Staphylococcus aureus* sont parfois si difficiles à traiter. Elles ont émis l'hypothèse que ces vaches pourraient héberger une souche bien spéciale de

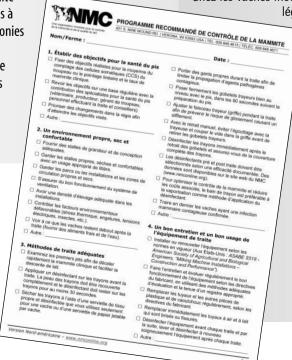
S. aureus. Pour vérifier leur théorie, Heba a mis en culture des échantillons de lait récoltés chez 11 vaches atteintes de mammite chronique causée par ladite bactérie. Les résultats ont alors mis à jour la souche recherchée : un variant de S. aureus à petites colonies (small colony variants). Cette souche spécifique provient de l'habileté de la bactérie à se transformer génétiquement en une nouvelle colonie à croissance lente qui résiste aux antibiotiques et aux vaccins. Ce variant de S. aureus existe en médecine humaine et malheureusement, il résiste à de nombreux antibiotiques.

Chez les vaches inoculées par SCV Heba3231, les chercheurs ont observé une mammite légère ne démontrant que très peu de signes visibles. Il semble

que cette souche possède également une grande habileté à se cacher à l'intérieur des cellules épithéliales de la glande mammaire ce qui la protègerait des antibiotiques.

Cette étude est la première démontrant ce variant de *S. aureus* chez des vaches atteintes de mammite chronique. On croît que cette souche pourrait contribuer à la survie prolongée de *S. aureus* dans certains cas de mammite chronique. Tout comme pour *S. aureus*, les moyens pour prévenir et contrôler cette bactérie demeurent encore le respect du Programme recommandé de contrôle de la mammite du NMC.

[ http://www.medvet.umontreal.ca/reseau\_mammite/producteurs/index.php?lang=fr ]



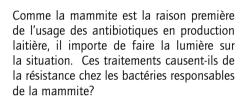
ATTENTION

Association entre l'usage des antibiotiques

dans le traitement de

la mammite et l'antibiorésistance

Les animaux, tout comme les humains, ont besoin des antibiotiques et autres agents antimicrobiens pour prévenir ou traiter les maladies qui les affectent. L'usage de ces produits améliore leur santé et leur bien-être. Or, la controverse entourant leur utilisation en agriculture provient surtout de l'usage intensif et non thérapeutique d'antibiotiques à titre de facteurs de croissance qui peut conduire à l'apparition de résistance.



C'est sur cette question que se penche Vineet Saini, étudiant au doctorat à l'Université de Calgary, sous la direction d'Herman Barkema. La collecte des données nécessaires à ce projet s'est faite en collaboration avec les producteurs des 91 fermes de la Cohorte nationale des fermes laitières du RCRMB. En effet, ces derniers ont dû se contraindre à consigner tous les contenants vides d'antibiotiques utilisés sur leur ferme. Ils ont également tenu un registre indiquant tous les traitements individuels, les doses et les antibiotiques utilisés. Ce sont ensuite les techniciens et les étudiants du RCRMB qui ont procédé à l'inventaire et à la compilation de toutes ces données dans chacune des six provinces canadiennes étudiées.

En parallèle, plusieurs séries d'échantillons de lait ont été prélevées chez toutes ces fermes en 2007 et 2008. L'analyse de ces échantillons permettra d'évaluer le profil de résistance de trois bactéries communes de la mammite : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella*.

Cette année, les chercheurs ont complété l'inventaire de tous les médicaments utilisés dans les fermes. La figure 7 présente d'ailleurs la proportion des traitements antibiotiques utilisés en format intramammaire et en injectable. Les résultats des analyses sur l'antibiorésistance seront connus en 2010.

#### D'où provient l'antibiorésistance?

Les experts attribuent la montée de l'antibiorésistance à trois facteurs principaux :

- Un mauvais diagnostic. Lorsqu'un antibiotique est administré pour combattre une maladie qui n'est pas causée par une bactérie, le traitement est inefficace. Même chose lorsque l'antibiotique administré ne convient pas à la bactérie spécifique qu'il doit combattre.
- Un emploi inadéquat. Lorsque le dosage de l'antibiotique ou la durée du traitement n'est pas respecté, certaines bactéries survivent au traitement et ont la possibilité de développer une résistance au médicament. Les plus faibles sont éliminées, et les plus fortes survivent et se multiplient. Cela donne lieu à une reprise de la maladie sous une forme difficile à traiter.
- La contamination environnementale. L'industrie agroalimentaire moderne intègre souvent des antibiotiques dans l'alimentation des animaux d'élevage afin d'en accélérer la croissance. C'est le cas du bœuf, du veau, du porc, de la volaille et du poisson de pisciculture. Des substances antibiotiques sont également pulvérisées dans les vergers afin de combattre ou de prévenir les maladies des fruits. Des résidus (restes) de substances antibiotiques se retrouvent ainsi dans les aliments que l'on consomme. Ils se retrouvent aussi dans les cours d'eau et les nappes d'eau souterraines, contaminant les sources d'eau potable. Il en va de même des déchets médicaux si on n'en dispose pas de manière adéquate.

Source: www.naitreetgrandir.net



**72** %

Antibiotiques injectables

28 %
Tubes
intramammaires

Figure 7. Les tubes intramammaires utilisés pour le traitement de la mammite représentent 28 % du total des antibiotiques utilisés sur les fermes laitières; l'autre partie étant constituée de produits injectables.

# Équipe de recherche

Le Réseau canadien de recherche sur la mammite bovine comprend 35 membres actifs et collaborateurs d'institutions de recherche canadiennes. Le programme de recherche actuel implique également des collaborateurs internationaux.

#### Chercheurs membres:

#### Herman Barkema University of Calgary

barkema@ucalgary.ca

#### **Nathalie Bissonnette**

CRDBLP-Agriculture et Agroalimentaire Canada bissonnettenath@agr.gc.ca

#### Émile Bouchard

Université de Montréal emile.bouchard@umontreal.ca

#### John Campbell

University of Saskatchewan john.campbell@usask.ca

#### Luc DesCôteaux

Université de Montréal luc.descoteaux@umontreal.ca

#### **Trevor DeVries**

University of Guelph tdevries@kemptvillec.uoguelph.ca

#### Moussa Sory Diarra

CRAPAC-Agriculture et Agroalimentaire Canada diarram@agr.gc.ca

#### Ian Dohoo

University of Prince Edward Island dohoo@upei.ca

#### Monique Doré

Université de Montréal monique.dore@umontreal.ca

#### Marcelo Gottschalk

Université de Montréal marcelo.gottschalk@umontreal.ca

#### **Philip Griebel**

University of Saskatchewan - VIDO philip.griebel@usask.ca

#### Niel A. Karrow

University of Guelph nkarrow@uoguelph.ca

#### **Greg Keefe**

University of Prince Edward Island gkeefe@upei.ca

#### **David Kelton**

University of Guelph dkelton@uoquelph.ca

#### Pierre Lacasse

CRDBLP-Agriculture et Agroalimentaire lacassep@agr.gc.ca

#### Kenneth Leslie

University of Guelph keleslie@ovc.uoquelph.ca

#### J T. McClure

University of Prince Edward Island imcclure@upei.ca

#### Bonnie A. Mallard

University of Guelph bmallard@ovc.uoguelph.ca

#### François Malouin

Université de Sherbrooke francois.malouin@usherbrooke.ca

#### Serge Messier

Université de Montréal serge.messier@umontreal.ca

#### Jose Perez-Casal

University of Saskatchewan - VIDO jose.perez-casal@usask.ca

#### **Andrew Potter**

University of Saskatchewan - VIDO andrew.potter@usask.ca

#### **Claude Robert**

Université Laval claude.robert@san.ulaval.ca

#### Jean-Philippe Roy

Université de Montréal jean-philippe.roy@umontreal.ca

#### **Daniel Scholl**

Université de Montréal daniel.scholl@umontreal.ca

#### Henrik Stryhn

University of Prince Edward Island hstryhn@upei.ca

#### **Brian Talbot**

Université de Sherbrooke brian.talbot@usherbrooke.ca

#### John VanLeeuwen

University of Prince Edward Island jvanleeuwen@upei.ca

#### Xin Zhao

Université McGill xin.zhao@mcgill.ca

#### Chercheurs collaborateurs:

#### **James Bellamy**

University of Prince Edward Island bellamy@upei.ca

#### **Patrick Boerlin**

University of Guelph pboerlin@uoquelph.ca

#### Vilceu Bordignon

Université McGill vilceu.bordignon@mcgill.ca

#### David Léger

Agence de santé publique du Canada David\_leger@phac-aspc.gc.ca

#### **Paula Menzies**

University of Guelph pmenzies@ovc.uoguelph.ca

#### Musangu Ngeleka

University of Saskatchewan musangu.ngeleka@usask.ca

## Pour nous joindre



Réseau canadien de recherche sur la mammite bovine Canadian Bovine Mastitis Research Network

#### Réseau canadien de recherche sur la mammite bovine Faculté de médecine vétérinaire

Université de Montréal

C.P. 5000, Saint-Hyacinthe (Québec) Canada J2S 7C6

Site Internet: www.reseaumammite.org

#### **Daniel Scholl**

Directeur scientifique

Téléphone: 450 773-8521, poste 8605

Daniel.scholl@umontreal.ca

#### Marie-Ève Paradis

Adjointe scientifique Téléphone: 450 773-8521, poste 8621 Marie-eve.paradis1@umontreal.ca

#### Annik L'Espérance

Gestionnaire de Réseau Téléphone: 450 773-8521, poste 8619

Annik.lesperance@umontreal.ca

#### Julie Baillargeon

Agente de transfert

Téléphone: 450 773-8521, poste 8620 Julie.baillargeon@umontreal.ca

#### Hélène Poirier

Chargée de projet en transfert Téléphone: 450 773-8521, poste 0066

Helene.poirier@umontreal.ca

#### Anne-Marie Christen

Chargée de projet en transfert Téléphone: 450 773-8521, poste 0195 Anne-marie.christen@umontreal.ca

#### Isabelle Jodoin

Secrétaire

Téléphone: 450 773-8521, poste 8618

i.jodoin@umontreal.ca

Le succès de notre Réseau est attribuable à tous nos partenaires financiers, nos partenaires de recherche, nos donateurs, et nos commanditaires : le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada et plusieurs organisations gouvernementales et privées. Une appréciation spéciale est dédiée à tous les producteurs laitiers du Canada qui participent financièrement à notre programme de recherche et qui sont impliqués à tous les niveaux de décision.





Agence de santé publique du Canada

Public Health Agency of Canada



Agriculture et Agroalimentaire Canada

Agriculture and Agri-Food Canada































Santé animale

