



Agriculture **D**urable  
par l'**A**utonomie,  
la **G**estion et l'**E**nvironnement



# Trois années d'expérimentation sur les leucocytes 2015 - 2017

## Contexte : Etude exploratoire sur les mammites sub-cliniques

Le projet Arom'Adage<sup>1</sup> réunit des fermes adhérentes au Civam Adage 35 autour d'une question commune :

### **Comment traiter les mammites sub-cliniques chez la vache laitière à l'aide d'huiles essentielles en réduisant la consommation d'antibiotiques et les comptages leucocytaires ?**

Pour y répondre, les éleveurs constituent un groupe de travail et mettent en place des essais au sein de leurs exploitations. Entre 2014 et 2016, ils testent l'efficacité d'un traitement contre des mammites sub-cliniques sur 40 vaches, en deux phases d'expérimentation :

- ✓ Mars 2015 - Août 2015 : 22 vaches réparties dans 6 exploitations du collectif ; 6 vaches de la ferme expérimentale de l'INRA de Mirecourt sont également traitées et suivies.
- ✓ Novembre 2015 - Mars 2016 : 12 vaches réparties dans 5 exploitations du collectif.

Le groupe a choisi une question de travail ambitieuse (réduire les leucocytes chez les vaches avec des comptages élevés) dans une étude exploratoire, sans certitude de résultats. L'objectif est avant tout d'aborder un sujet complexe (les leucocytes chez la vache laitière) au sein d'un groupe. Les éleveurs visent aussi à créer une dynamique collective, où chacun est acteur à travers ses essais.

Le protocole testé est proposé par Michel Derval, aromatalogue, formateur en aromathérapie. Les huiles essentielles sont choisies pour stimuler les défenses immunitaires et lutter contre les germes pathogènes dans la mamelle. Le traitement suivant est appliqué pendant 10 jours à raison d'une fois par jour :

Huiles essentielles	Zone d'application	Nombre de sprays
Cinnamomum zeylanicum écorce (avec 2 dixièmes d'huile végétale)	Ombilic	1
Elettaria cardamomum (semences)	Grassets	2 de chaque côté
Daucus carotta (semences cultivées)	Lunules des pattes arrière	1 sur chaque côté

<sup>1</sup> Projet coordonné par le Civam Adage 35 et cofinancé par la région Bretagne, le département d'Ille et Vilaine et la laiterie Triballat-Noyal sur la période 2014-2017.

Pour participer aux essais, les animaux ont été sélectionnés sur les caractéristiques suivantes :

- ✓ Présenter deux comptages cellulaires supérieurs à la valeur 400 000. Ce seuil a été réduit à 300 000 pour la deuxième période d'essais.
- ✓ Ne pas avoir reçu de traitement (allopathie, aromathérapie,...) le mois précédent le début des essais.

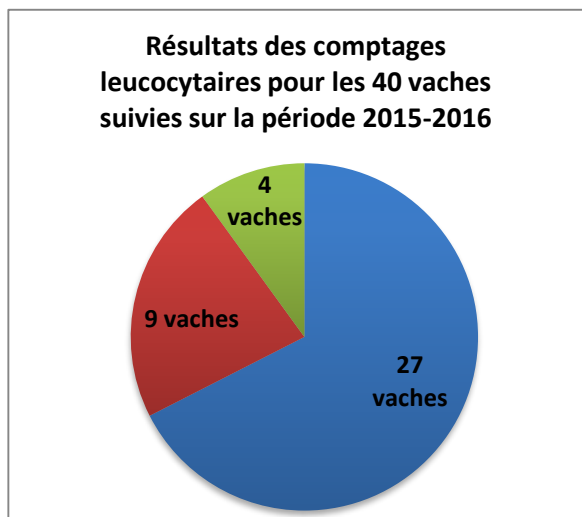
Les animaux ont été suivis pendant trois mois, au cours desquels les prélèvements suivants ont été réalisés :

- ✓ Deux bactériologies du lait : la 1<sup>ière</sup> avant le début du traitement et la 2<sup>ième</sup> 60 jours plus tard. Afin d'éviter la pise en compte de réinfections, cette durée a été raccourcie à 30 jours pour la deuxième période d'essais.
- ✓ 7 analyses leucocytaires du lait : La 1<sup>ière</sup> avant le début du traitement puis deux par mois pendant les 3 mois des essais (à environ 15 jours d'intervalle).

La 1<sup>ière</sup> année, les prélèvements ont été effectués sur du lait de mélange des 4 quartiers. L'année suivante, seul le quartier infecté a été prélevé (déterminé par comptage cellulaire ou leucocytost au préalable).

### Résultats des comptages leucocytaires : Réduction pour 4 vaches

Les animaux ont été regroupés en 3 catégories selon l'évolution de leurs taux cellulaires au cours des trois mois suivant le premier jour d'application du protocole (J0) :



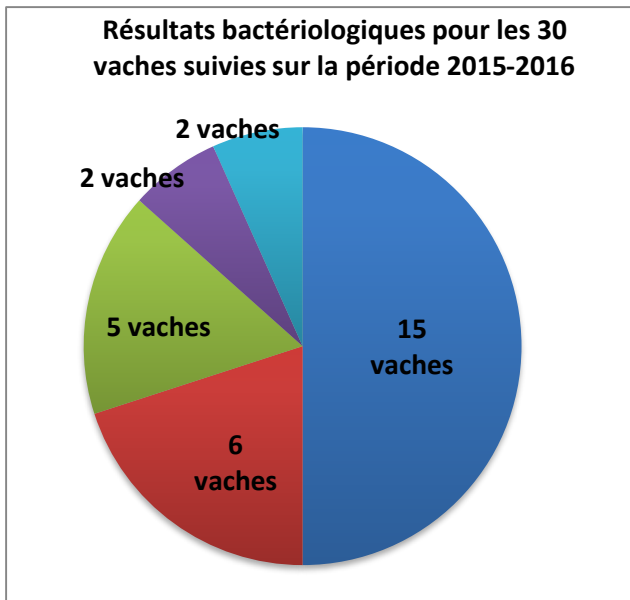
- 27 vaches (68%) ont obtenu des taux variables ne descendant jamais en dessous du seuil des 300 000 cellules durant les 3 mois après J0 (en bleu).
- 9 vaches (23%) ont obtenu des taux variables pouvant descendre en dessous du seuil des 300 000 cellules ponctuellement durant les 3 mois après J0 (en rouge).
- 4 vaches (10%) possèdent deux comptages cellulaires successifs inférieurs à 300 000 à partir de la fin d'application du traitement (J10). Deux d'entre elles ont obtenu deux comptages cellulaires successifs inférieurs à 200 000 cellules à partir de la fin d'application du traitement (en vert).

Sur les 40 vaches suivies, 4 vaches obtiennent des résultats satisfaisants.

Ces animaux ont eu deux comptages cellulaires successifs inférieurs à 300 000 cellules dans les trois mois qui ont suivi l'application du traitement aux huiles essentielles testé.

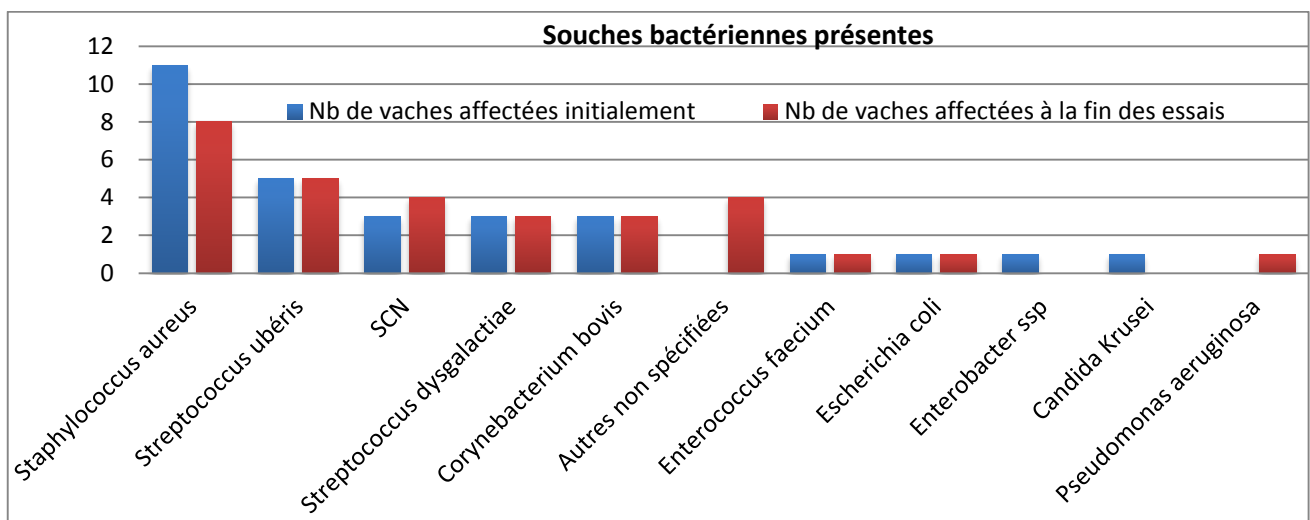
## Résultats bactériologiques : Disparition des germes pour 2 vaches

Sur les 40 vaches suivies, seules 30 ont eu des analyses bactériologiques exploitables. L'évolution des populations bactériennes après traitements sont diverses :



- 15 vaches (50%) ont conservé la même souche bactérienne entre la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>nd</sup> bactériologie (en bleu foncé).
- 11 vaches ont été ré-infectées par un nouveau germe (germe supplémentaire, élimination d'une souche et réinfection par une autre, ...). Cette catégorie est représentée sur le graphique par la somme des ensembles rouge et vert.
- 2 vaches ne présentent pas de germe à la 1<sup>ère</sup> et à 2<sup>nd</sup> bactériologie (en violet).
- 2 vaches ont éliminé la souche bactérienne présente dans leur quartier (en bleu clair).

Sur les 30 animaux suivis, 11 germes ont été identifiés. Les bactéries prépondérantes sont des staphylocoques (*Staphylococcus aureus* ; 37% des cas à la première bactériologie ; 27% à la seconde) et des streptocoques (*Streptococcus uberis* et *Streptococcus dysgalactiae*).



SCN : Staphylocoques à coagulase négative (SCN) ; Nb : nombre  
Nb : Nombre

Dans l'échantillon, 2 vaches ont éliminé la souche bactérienne présente. Sur les 30 vaches suivies, 11 souches de germes différentes ont été identifiées, avec *Staphylococcus aureus* en tête de file.

## Combinaison des critères cellulaires et bactériologiques

Les 4 vaches possédant deux comptages cellulaires successifs inférieurs à 300 000 au cours du suivi présentent des profils différents au niveau des analyses bactériologiques : élimination puis apparition d'une souche, absence de germes aux deux analyses, ou encore élimination d'un germe. Les deux vaches qui ont éliminé les germes initialement présents dans leur mamelle ont également eu deux comptages cellulaires successifs inférieurs à 300 000 au cours du suivi. La guérison basée sur un couplage de ces deux critères (2 vaches, soit 6%) n'est pas comparable à celle obtenue par antibiothérapie (66% pour Djuricic, 2014).

## Des résultats proches de ceux d'une guérison spontanée

Pour les comptages cellulaires, voici quelques études à titre d'exemple.

Traitement	Taux de guérison	Source
Antibiothérapie intramammaire	72%	Van den Borne et al, 2010
Aromathérapie*	37%	Harlet, 2012
Guérison spontanée	22%	Van den Borne et al, 2010

Pour les analyses bactériologiques, vous trouverez à nouveau quelques études à titre d'exemple ci-dessous. On observe que les résultats des deux traitements aux huiles essentielles présentés ci-dessus sont comparables à ceux de la guérison spontanée de l'étude de Van den Borne.

Traitement	Taux de guérison	Source
Antibiothérapie	75%	Van den Borne et al, 2010
Aromathérapie*	29%	Harlet, 2012
Aromathérapie**	20%	Chorfi et al, 2012
Guérison spontanée	28%	Van den Borne et al, 2010

\* Dans l'étude issue de la thèse vétérinaire d'Harlet, un mélange de 3 huiles essentielles a été testé : Eucalyptus citriodora citronnellalifera, Mentha arvensis var piperascens et Thymus saturoioides (CT borneol).

\*\* Dans l'étude issue de la publication de Chorfi et al, un mélange de 3 huiles essentielles a été testé : Entada gigalobium, Trachyspermum ammi et Cinnamomum cassia.

Il est difficile de présenter une comparaison entre nos résultats et d'autres études. Effectivement, notre échantillon est de très petite taille et les modalités de prélèvements sont différentes pour les comptages cellulaires entre la 1<sup>ière</sup> et la 2<sup>ème</sup> d'essais. D'autre part, les types d'application ne sont pas comparables. A l'Adage, l'application est externe, alors que l'administration est intra mammaire pour les études allopathiques, où les antibiotiques sont également ciblés grâce à un antibiogramme.

### Pistes d'amélioration de l'étude

Les éléments suivants, non pris en compte dans l'étude, constituent des pistes pour expliquer les résultats :

- ✓ Le seuil d'inclusion des vaches dans le protocole était de 400 000 à 300 000 cellules/mL. Or, le seuil physiologique est habituellement fixé à 150 000 pour les primipares et 200 000 pour les multipares (Deluyker et al, 2005 ; Van den Borne et al, 2010).
- ✓ L'état des vaches étudié peut être considéré comme chronique (Persson et al, 2011). Les vaches avec des antécédents de troubles de santé mammaire et plus particulièrement des numérations cellulaires hautes sont souvent celles qui possèdent le moins de chance de guérison (Remy, 2010).
- ✓ Le pourcentage de guérison dépend de l'âge, du stade de lactation, de l'ancienneté et la sévérité de l'infection (avec plus de 2 CCSI élevés), de l'état de la mamelle (sphincters endommagés, lésions, nodules), des germes et le nombre de quartiers atteints (Remy, 2010 ; Mc Dougall, 2007).

En prenant en compte un seuil plus faible pour traiter les vaches et en traitant suite à une augmentation récente des numérations cellulaires élevées (pas d'infection chronique), les vaches suivies auraient sans doute eu une meilleure chance de guérison. Plusieurs éléments cités ci-dessus n'ont pas été pris en compte dans notre étude et auraient pu nous fournir des éléments explicatifs supplémentaires.

### Conclusion

Le protocole testé pour les mammites sub-cliniques n'a pas répondu aux attentes des éleveurs : ni au niveau de la réduction des comptages leucocytaire (4 vaches avec des résultats satisfaisants), ni au niveau des infections bactériennes (2 vaches avec des résultats satisfaisants). Effectivement, ces résultats sont équivalents à ceux de la guérison spontanée. Les mauvais résultats de guérison bactériologique peuvent entre autres s'expliquer par une proportion importante de germes difficile à éliminer (Erskine et al, 2003).

L'échec thérapeutique de ce protocole survient après huit années de pratiques de l'aromathérapie dans les fermes du Civam Adage 35 pendant lesquelles de bons résultats ont été observés sur un grand nombre de pathologies. Les données recueillies en 2016 dans 28 élevages de l'ADAGE appuient ce constat (.

Les vaches aux comptages cellulaires élevées peuvent être à l'origine de pénalités importantes dans les élevages. Il est indispensable de continuer à chercher des solutions efficaces qui ne relèvent pas de l'antibiothérapie pour pouvoir proposer des alternatives aux éleveurs. Dans le cas d'autres essais, un suivi de vaches présentant un bon pronostic permettrait de maximiser les chances de réussite et ne pas s'obstiner sur des cas incurables. Les critères suivants pourront être pris en compte (Remy, 2010):

- ✓ Une infection récente (2 comptages cellulaires mensuels supérieurs à 300 000)
- ✓ Vache de moins de 5 ans
- ✓ Absence de nodule, de lésion ou de sphincter endommagé
- ✓ Seulement un voire deux quartiers atteints et de préférence les antérieurs
- ✓ Staphylocoques à coagulases négatives et les streptocoques autres qu'*uberis*.

### Poursuite d'essais en 2017 : Confirmation des résultats des années passées

De nouveaux essais ont été menés lors de la troisième série d'essais du projet Arôm'Adage. Suite aux enseignements des deux premières années, l'étude a été reconduite avec quelques ajustements. En 2017, les animaux sont suivis pendant trois mois, les méthodes de prélèvements et d'analyses sont identiques à ceux de la deuxième année d'essais (2016). Au total, 19 vaches sont suivies dans 10 fermes.

Les animaux sont sélectionnés sur des caractéristiques supplémentaires :

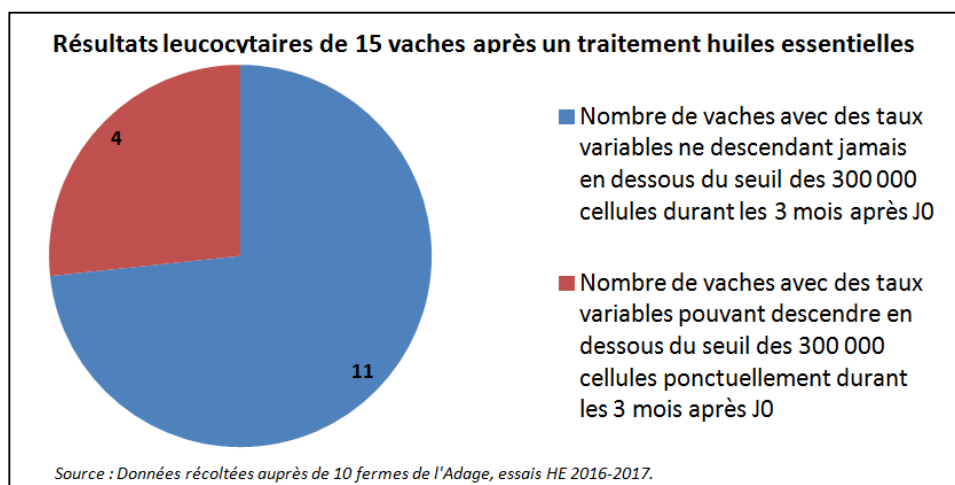
- ✓ Une infection récente (seulement 2 comptages cellulaires mensuels supérieurs à 300 000)
- ✓ Pas d'antécédents de troubles de santé mammaire (pas de mammite dans la lactation en cours)

Un nouveau protocole est testé :

Huiles essentielles	Zone d'application	Nombre de sprays
Cinnamomum zeylanicum écorce (avec 2 dixièmes d'huile végétale)	A l'attache de la queue (soir)	1
Ravensara anisata écorce	Ombilic (matin)	2
Pinus ponderosa	Ombilic (soir)	2

### Résultats des comptages leucocytaires : Pas de réduction durable dans l'échantillon

Parmi les 19 animaux suivis, 15 ont des résultats exploitables. On distingue deux catégories selon l'évolution de leurs taux cellulaires au cours des trois mois suivant le premier jour d'application du protocole (J0).

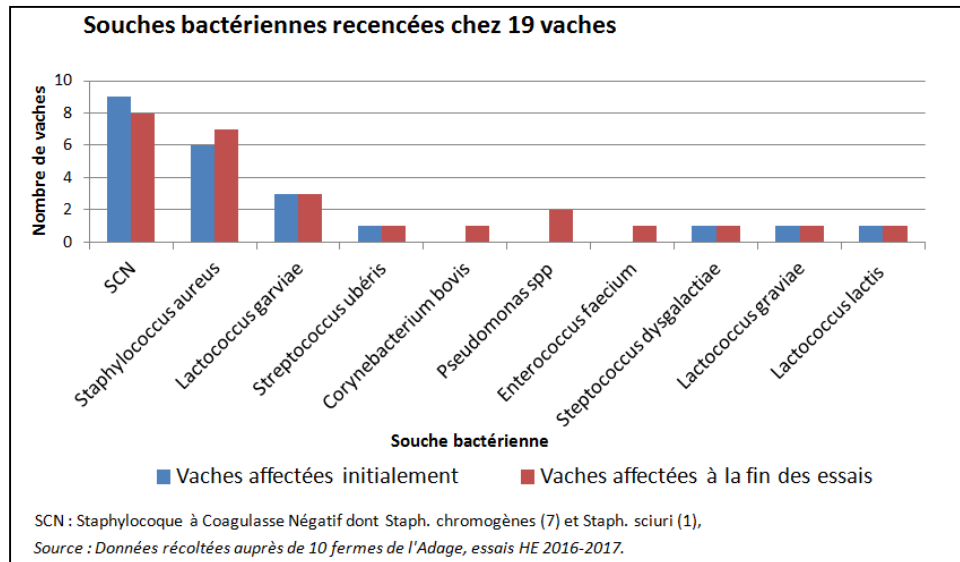


Sur les 19 vaches suivies, aucune ne réduit durablement ses comptages cellulaires après application du protocole. La majorité des vaches affichent des comptages cellulaires variables au cours du suivi.



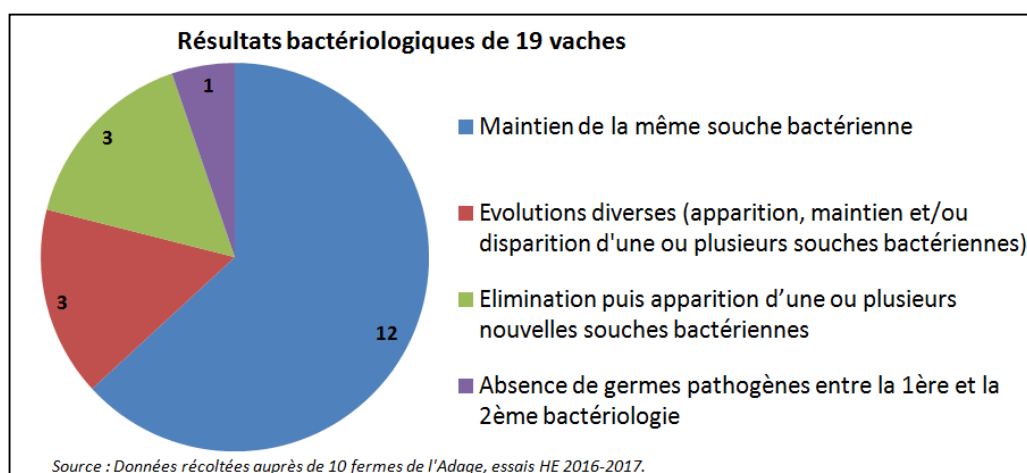
## Résultats bactériologiques : Pas d'élimination des germes dans l'échantillon

Sur les 19 vaches suivies, on trouve 9 germes. Les bactéries prépondérantes sont des staphylocoques chromogènes (de la famille des Staphylocoque à coagulas négative) et des staphylocoques dorés (aureus).



Comme les années passées, le staphylocoque doré (aureus) reste un germe majeur dans l'échantillon.

L'évolution des populations bactériennes a le même profil que les années passées : 12 vaches ont conservé la même souche bactérienne entre la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>nd</sup> bactériologie.



Dans l'échantillon, plusieurs vaches d'un même élevage présentent généralement toutes les mêmes germes.

Sur 19 vaches, aucune n'a éliminé un ou plusieurs germes au cours du suivi.

## Trois années d'expérimentation sur les leucocytes

Les résultats présentés dans ce document proviennent d'une étude exploratoire menée par le Civam Adage 35 (Agriculture Durable par l'Autonomie, la Gestion et l'Environnement). Cette association, composée d'éleveurs bovin aux systèmes économes en intrants, s'intéresse aux thérapies alternatives dans le cadre d'une approche globale de l'exploitation. Elle s'inscrit dans une dynamique d'innovation et d'expérimentation dans les fermes volontaires.

Cette étude a été conduite dans le cadre du projet Arom'Adage. Financé par la région Bretagne, la laiterie Triballat et le département d'Ille et Vilaine, ce projet se consacre aux huiles essentielles comme alternatives aux antibiotiques.

### Bibliographie :

ABBAL M., ALRIC L., CANTAGREL A., DELISLE B., 2016. Réaction inflammatoire : aspects biologiques et cliniques.

BRUNETON J., 2009. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.

CAILLET S., LACROIX M., 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire.

CHORFI Younes, COUTURE Yvon, FOURNIER Alain, DUFOUR Simon, JINANE Noureddine, 2012. Comparaison des effets de deux traitements naturels anti-mammites sur la guérison clinique et bactériologique et sur le comptage des cellules somatiques dans les troupeaux biologiques du Québec.

DJURICIC D., SAMARDZIJA M., GRIZELJ J., DOBRANIC T., 2014. Effet du traitement intramammaire des mammites sub-cliniques pendant la lactation en élevages bovins laitiers au nord-ouest de la Croatie

DELUYKER H.A., VAN OYE S.N., BOUCHER J.F., 2005. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows.

ERSKINE R.J., WAGNER S., DEGAIVES F.J., 2003. Mastitis therapy and pharmacology.

HARLET Marie, 2012. Mammites de la vache laitière. Etude de l'efficacité d'un mélange d'huiles essentielles par application cutanée locale dans 34 élevages bretons.

JOLLOIS Roger, PÉNOËL Daniel, FRANCHOMME Pierre, MARS Jean. L'aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. . [S.l.] : Jollois, 2001, ISBN 978-2-87819-001-4.

LABRE Philippe. Phytothérapie et aromathérapie chez les ruminants et le cheval. . Thônes (les Deux-Torrents, Av. d'Annecy, 74230) : Éd. FEMENVET, 2007, ISBN 978-2-9516515-1-7.

MC DOUGALL S., ARTHUR D.G., BRYAN M.A., VERMUNT J.J., WEIR A.M., 2007. Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of their intramammary antibiotics.

PERSSON Y., NYMAN A.K.J., GRONLUND-ANDERSSON U., 2011. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden.

RÉMY Dominique, BOSQUET Gérard, 2010. Les mammites.

ROUSSEL P.H., SEEGER H., SERIEYS F., 2011. Guide d'intervention pour la maîtrise des mammites dans les troupeaux laitiers.

VAN DEN BORNE B. H. P., VAN SCHAIK G., LAM T. J. G. M., NIELEN M., 2010 Therapeutic effects of antimicrobial treatment during lactation of recently acquired bovine subclinical mastitis: Two linked randomized field trials.

Réalisation : Civam Adage 35 ; Stage de Pierre-Olivier RENARD, Etudiant en 5<sup>ème</sup> année d'école d'ingénieur à l'ISARA-Lyon, Juin 2016 ; Stage de Mathilde Aoutin, Etudiante en Licence professionnelle animation et valorisation, mai 2017. L'ensemble de leurs productions est disponible sur demande.

Pour toute question, contactez l'ADAGE au 02 99 77 09 56 ou par mail : [contact@adage35.org](mailto:contact@adage35.org)

