



**HAL**  
open science

## Vaccination contre les mammites à bactéries coliformes

Pascal Rainard, Pierre Germon

► **To cite this version:**

Pascal Rainard, Pierre Germon. Vaccination contre les mammites à bactéries coliformes. Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires (GTV), Groupements Techniques Vétérinaires, May 2022, Nantes, France. hal-04181926

**HAL Id: hal-04181926**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04181926v1>**

Submitted on 16 Aug 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## Vaccination contre les mammites à bactéries coliformes

P. RAINARD<sup>1</sup>, P. GERMON<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRAE, Université de Tours, UMR ISP, FR37380, Nouzilly, France

### Résumé

Les mammites à bactéries coliformes sont responsables d'une proportion importante des mammites cliniques sévères chez la vache laitière. Plus réfractaires aux mesures de prophylaxie sanitaire que les mammites dues aux bactéries Gram-positives, ces infections font l'objet d'une prophylaxie vaccinale. Les vaccins actuellement disponibles, basés sur l'utilisation de bactéries tuées « rugueuses » ont une efficacité limitée et variable selon les études dans les conditions d'élevage, et peu d'effet mesurable en condition expérimentale contrôlée. On ne connaît pas les mécanismes d'action des vaccins de type J5. L'induction d'anticorps opsonisants favorisant la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles n'est pas avérée, tout comme la stimulation du recrutement des cellules phagocytaires. D'autres voies de recherche, comme l'inhibition de la prolifération des bactéries coliformes par l'immunité nutritionnelle (privation du fer par exemple), a été tentée mais semble difficile à mettre en place. L'induction d'une immunité à médiation cellulaire constitue une nouvelle piste de recherche. En renforçant les défenses de la barrière épithéliale et en optimisant l'efficacité des défenses leucocytaires, elle pourrait amener une diminution de la sévérité des infections et prévenir l'établissement d'infections récurrentes. Il reste beaucoup de connaissances à acquérir pour pouvoir manipuler efficacement ce type d'immunité et tirer le meilleur parti de l'inflammation neutrophilique, mais cette voie de recherche ouvre la possibilité de développement de vaccins efficaces contre les mammites à bactéries coliformes.

### Introduction

Les bactéries englobées sous le terme de coliformes sont des bacilles Gram négatif des genres *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* et *Citrobacter*, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. En France, *Escherichia coli* est beaucoup plus souvent isolé du lait de mammité que les autres coliformes. Ce pathogène est, avec *Streptococcus uberis*, le plus fréquemment isolé de mammites aiguës et cliniques sévères [13]. Ceci bien que la prévalence de ces infections soit généralement sous-estimée, car une proportion des échantillons de lait déclarés stériles (20 à 30% du total) permet en fait d'isoler *E. coli* lorsque des méthodes adaptées sont mises en œuvre [12]. L'incidence des infections colibacillaires ne semble pas avoir sensiblement diminué malgré la mise en place du schéma classique de prophylaxie des infections mammaires, probablement parce que ce dernier est surtout efficace contre les pathogènes contagieux, et que la plupart des infections par *E. coli* sont le résultat de contamination à partir de l'environnement de la vache. En effet, il apparaît que les isolats d'infection mammaire proviennent des colibacilles fécaux, que les vaches répandent dans leur environnement, et qui pénètrent dans la mamelle par le canal du trayon (infection ascendante) aussi bien pendant qu'entre les traites [9, 11]. La plupart des infections colibacillaires sont éliminées en moins de 10 jours, mais la sévérité de certains cas, en particulier pendant le

péripartum, est une source importante de mal-être pour les animaux atteints. Les pertes de production de lait, qui subsistent pendant toute la lactation en cours, grèvent la rentabilité des élevages les plus atteints. Il n'est pas toujours possible de réduire sensiblement l'incidence des infections avec des mesures de prophylaxie sanitaire, par exemple lorsque des bâtiments d'élevage trop restreints ou inadaptés sont en cause. C'est pourquoi une prévention vaccinale efficace aurait un intérêt certain et a fait et fait encore l'objet de recherches.

### **Les vaccins contre les mammites colibacillaires et leur efficacité**

La vaccination contre les mammites à coliformes est assez largement utilisée aux USA [4]. En Europe un vaccin a bénéficié récemment d'une AMM. Ces vaccins reposent sur l'utilisation de bactéries tuées de la souche J5 de *E. coli*. Ces bactéries, incapables de synthétiser un lipopolysaccharide (LPS) de surface complet, sont censées favoriser la production d'anticorps contre les antigènes exposés de la membrane lipidique externe caractéristique des bactéries Gram négatif [12]. Elles sont administrées, à chaque lactation, en deux ou trois injections par voie systémique avec un adjuvant pendant la période sèche et peu après le vêlage, de façon à induire une protection pendant la période de risque maximal du péripartum et du début de lactation. En Europe, un vaccin ciblant les infections mammaires induites par *E. coli* et *S. aureus* (StartVac®, Laboratorios Hipra S.A., Amer, Espagne) est disponible depuis quelques années. Ce vaccin est composé d'une association de bactéries tuées de la souche *E. coli* J5 et d'une souche de *S. aureus*, en émulsion huileuse (paraffine). Cette préparation doit être administrée par voie intramusculaire en trois injections, 45 jours avant la date présumée de mise-bas, un mois plus tard, et deux mois après la mise-bas, à renouveler chaque année.

Certaines études réalisées dans les conditions d'élevage montrent des effets bénéfiques des vaccins à base de bactéries J5 : réduction de la sévérité des mammites, diminution des baisses de production de lait, ce qui assure un retour sur investissement bénéficiaire [1]. Ils pourraient avoir aussi quelques effets bénéfiques sur les mammites à *Klebsiella* [25, 26]. Mais ces études révèlent aussi des limites : pas d'effet notable du vaccin sur le nombre de cas de mammite clinique ou l'impact des mammites colibacillaires sur la reproduction [25, 26]. D'autres études terrain ne montrent pas d'effet notable ni sur l'incidence des infections ni sur leur sévérité et conséquences économiques [21, 22, 24]. Dans tous les cas, l'incapacité des vaccins J5 à réduire l'incidence des mammites colibacillaires est leur principale limite [9].

A la différence des essais terrain, la plupart des essais contrôlés (infections expérimentales) de l'effet de l'immunisation avec des bactéries J5 n'ont pas montré d'effet protecteur net [8, 18, 19]. Plusieurs raisons peuvent être avancées pour rendre compte de cette divergence. Tout d'abord, on peut incriminer des différences de formulations vaccinales, quant aux quantités de bactéries ou de l'adjuvant incorporé. Ensuite, en condition expérimentales, on traite des vaches d'un troupeau, de façon synchronisée, avec une souche bactérienne d'épreuve, ce qui ne rend pas compte de la diversité des situations en conditions normales d'élevage. Dans les essais terrain, on se trouve dans la situation d'une grande variabilité individuelle, avec des animaux d'âges différents, souvent sur un cycle complet de lactation, dans des troupeaux et donc des environnements variés. Les animaux se trouvent exposés à des souches variées, à différents moments de la journée. Leur diversité génétique est aussi plus grande que dans des essais impliquant des effectifs expérimentaux limités. On peut alors imaginer que le vaccin sera efficace dans certaines conditions, inefficace dans d'autres, utile pour certains animaux sensibles, superflu pour d'autres plus résistants,

inefficaces pour des animaux mauvais répondeurs au vaccin. Il est toutefois décevant que les essais contrôlés n'aient pas montré une efficacité au moins partielle, au moins sur certains animaux.

### **Les effets biologiques supposés et réels de la vaccination**

Un certain nombre de mécanismes de protection ont été avancés pour expliquer les effets bénéfiques des vaccins J5 [15]. La neutralisation par les anticorps de l'effet toxique du lipide A, principe actif de l'endotoxine colibacillaire, est très discuté et n'a pas été prouvé. La plupart des études sur les vaccins J5 ont mis en avant les anticorps opsonisants, en particulier de l'isotype IgG<sub>2</sub> reconnu par les neutrophiles, comme corrélats de protection. L'hypothèse est que les souches rugueuses comme la souche J5 induisent des anticorps qui, à la différence des souches lisses qui induisent principalement des anticorps contre le sérotype vaccinal, sont dirigés contre des antigènes partagés par la plupart des isolats de mammites [4]. Ces anticorps sont difficiles à induire en forte concentration, nécessitant plusieurs injections de rappel, et leurs titres s'amenuisent rapidement [4]. Surtout, leur activité opsonisante n'a pas été démontrée de façon convaincante. De plus, la possibilité d'un effet opsonisant des anticorps dirigés contre les protéines de la membrane externe de *E. coli* peut sérieusement être mise en doute : le polysaccharide du LPS (antigène O) masque la membrane externe, empêchant l'accès des anticorps à leur cible [16]. Cette observation corrobore le rôle essentiel reconnu des anticorps dirigés contre l'antigène O dans l'opsonisation de *E. coli* [23]. Cependant, les structures bactériennes qui font protrusion au-delà du manteau polysaccharidique du LPS, comme les pili et autres fimbriae, peuvent induire des anticorps qui vont pouvoir se fixer sur les bactéries lisses. On a montré que les bactéries J5 induisent des anticorps contre les fimbriae de type 1, et que ces anticorps marquent les isolats de mammites qui expriment cette structure [16]. Dans cette étude cependant, un effet net de ces anticorps sur l'efficacité de la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles n'a pas été induit.

Le fer est un élément indispensable au développement bactérien, et *E. coli* possède toute une panoplie de systèmes d'acquisition du fer. Une compétition pour cet oligo-élément entre l'hôte et le pathogène a lieu dans la mamelle, mettant en jeu les mécanismes de l'immunité nutritionnelle et les contre-mesures bactériennes de production de sidérophores [5]. Les sidérophores sont de petites molécules à forte affinité pour le fer, qui sont sécrétées par les bactéries, puis un fois chargées en fer, capturées par des récepteurs de la membrane externe. Deux systèmes d'acquisition du fer ont fait l'objet de tentatives vaccinales contre les mammites : le récepteur FepA de l'entérobactine et le récepteur du citrate de fer FecA [10, 20]. Une approche similaire a été utilisée avec des antigènes de la membrane externe d'une souche de *K. pneumoniae* isolée de mammites [6]. Aucune de ces tentatives n'a montré à ce jour un effet protecteur satisfaisant [15]. De façon générale, aucun mécanisme de protection contre les mammites colibacillaires lié aux anticorps vaccinaux n'a été authentifié à ce jour.

Très peu étudiée dans le cadre des vaccins contre les infections mammaires, l'immunité à médiation cellulaire joue certainement un rôle de premier plan. Derrière toute production d'anticorps de forte affinité, il y a des lymphocytes T auxiliaires (Th pour T helper). Outre l'aide qu'ils apportent aux lymphocytes B et à la production d'anticorps, les lymphocytes T auxiliaires remplissent bien d'autres fonctions. La stimulation des cellules phagocytaires et l'induction de cellules tueuses est favorisée par les lymphocytes Th1. Il a été proposé que le vaccin J5 agissait en partie en induisant ce type de réponse immunitaire, mais cette supposition n'a pas de support expérimental [3]. Une autre population de lymphocytes T

auxiliaires, les lymphocytes Th17, produisent des cytokines (IL-17A et IL-17F) qui stimulent les défenses des barrières épithéliales et favorisent le recrutement des leucocytes, et particulièrement les polynucléaires neutrophiles, aux sites infectieux. Ce type de réponse immunitaire est à considérer pour le développement de vaccins contre les infections mammaires [14].

### **Perspectives vaccinales : des obstacles à surmonter, des connaissances à acquérir**

Il faut en premier lieu se demander ce que l'on peut-on raisonnablement attendre d'un vaccin contre les mammites colibacillaires. Sachant que les colibacilles prolifèrent dans le lait de quartiers sains avec un temps de doublement d'environ 20 min, et que la mamelle réagit fortement à l'endotoxine libérée par cette multiplication, il faudrait pour éviter une vigoureuse réaction inflammatoire locale (c'est-à-dire une mammite) que le vaccin soit capable d'inhiber la croissance bactérienne dans la lumière de la glande mammaire. Cela a été tenté, jusqu'ici sans succès. En lactation, la principale difficulté est l'importante dilution dans le lait, qui rend très difficile l'obtention d'une concentration minimale inhibitrice d'anticorps, qui de plus sera très difficile à maintenir sur toute une lactation. Ce handicap ne s'applique pas à la période sèche, et l'induction d'anticorps inhibiteurs de la croissance, en particulier ceux interférant avec les mécanismes d'acquisition du fer, améliorant l'efficacité de la lactoferrine, pourraient avoir leur utilité. Dans la mamelle tarie les anticorps empêchant l'adhésion et l'invasion des cellules épithéliales mammaires pourraient aussi réduire la survenue d'infection persistantes latentes se transformant en mammites cliniques en péripartum. On peut cependant douter que les anticorps seuls permettent d'éviter le déclenchement d'une infection mammaire : l'exemple de la période colostrale, qui est associée aux cas les plus sévères de mammite colibacillaires, est aussi celle où les concentrations d'anticorps sont les plus élevées. On pourrait en déduire que les anticorps n'empêchent ni les nouvelles infections ni les infections persistantes de se déclarer au vêlage.

Si l'on se résigne à accepter une réaction inflammatoire, il faut alors chercher à améliorer son efficacité. Le principal marqueur de l'inflammation mammaire est l'afflux de polynucléaires neutrophiles, et la principale défense de la mamelle contre les infections, la phagocytose par ces cellules. Il est donc logique de chercher en priorité à améliorer l'efficacité de la phagocytose des bactéries par les polynucléaires neutrophiles. Le facteur limitant n'est pas la présence d'opsonines, anticorps ou complément. Un levier d'action est d'améliorer la vitesse de recrutement des cellules, ce qui permettrait de réduire la charge bactérienne et par voie de conséquence la production d'endotoxine. Un autre levier est l'augmentation de l'efficacité bactéricide des neutrophiles, en augmentant leur stimulation par des cytokines comme l'IFN- $\gamma$  et le TNF- $\alpha$ . Ces objectifs peuvent être atteints en induisant une immunité de type 3, exercée par des lymphocytes T produisant de l'IL-17 et de l'IFN- $\gamma$  [14]. Les neutrophiles ne sont pas seulement des cellules pro-inflammatoires et potentiellement dangereuses pour les tissus, notamment mammaire. Ils possèdent aussi une activité détoxifiante de l'endotoxine, exercée par l'enzyme acyloxyacil hydrolase (AOAH) présente dans ses granules [2]. Plus généralement, il faut considérer les neutrophiles comme une cellule aux potentialités multiples. Le neutrophile a longtemps été limité à son rôle de cellule phagocytaire. Pourtant, cette cellule peut adopter plusieurs phénotypes, comme celui de cellule régulatrice sans perte d'activité bactéricide, permettant de limiter l'inflammation tout en éliminant efficacement l'infection [17]. Des recherches visant à sur une meilleure connaissance des polynucléaires neutrophiles bovins sont à encourager.

## Conclusion

Les vaccins actuels, basés sur l'utilisation de bactéries tuées, sont assez décevants. Basés sur des présupposés erronés quant à leurs modes d'action, ils conduisent à de fausses pistes de recherche. Pour dépasser cette impasse, il faut ouvrir de nouveaux fronts de recherche. De multiples possibilités existent, fondées sur une bonne appréciation du processus infectieux et de l'immunité mammaire, comme la prise en compte de l'immunité à médiation cellulaire, notamment l'immunité de type 3 qui prend en charge particulièrement les infections des barrières épithéliales par les bactéries extracellulaires. Il nous reste encore beaucoup à apprendre sur les moyens d'induire une réponse protectrice par ce biais, la vaccination pouvant induire des réponses immunitaires différentes en fonction de nombreux paramètres [7]. L'exploitation des multiples potentialités des polynucléaires neutrophiles, acteurs majeurs de l'immunité mammaire, offre également de nouvelles pistes d'amélioration. Les moyens de développer un vaccin plus efficace que les vaccins de type J5 existent, mais il nous reste encore beaucoup à apprendre pour arriver à cet objectif.

## Bibliographie

1. BRADLEY AJ, BREEN JE, PAYNE B, *et al.* An investigation of the efficacy of a polyvalent mastitis vaccine using different vaccination regimens under field conditions in the United Kingdom. *J. Dairy Sci.*, 2015;98:1706-20.
2. BURVENICH C, VAN MERRIS V, MEHRZAD J, *et al.* Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Vet. Res.*, 2003;34:521-64.
3. DOSOGNE H, VANGROENWEGHE FBURVENICH C. Potential mechanism of action of J5 vaccine in protection against severe bovine coliform mastitis. *Vet. Res.*, 2002;33:1-12.
4. ERSKINE RJ. Vaccination strategies for mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2012;28:257-70.
5. GOLONKA R, SAN YEOH BVIJAY-KUMAR M. The Iron Tug-of-War between Bacterial Siderophores and Innate Immunity. *Journal of innate immunity*, 2019;11:249-262.
6. GORDEN PJ, KLEINHENZ MD, YDSTIE JA, *et al.* Efficacy of vaccination with a *Klebsiella pneumoniae* siderophore receptor protein vaccine for reduction of *Klebsiella* mastitis in lactating cattle. *Journal of Dairy Science*, 2018;101:10398-10408.
7. HERRY V, GITTON C, TABOURET G, *et al.* Local immunization impacts the response of dairy cows to *Escherichia coli* mastitis. *Scientific reports*, 2017;7:3441.
8. HILL AW. Vaccination of cows with rough *Escherichia coli* mutants fails to protect against experimental intramammary bacterial challenge. *Vet.Res.Comm.*, 1991;15:7-16.
9. KLAAS IC, ZADOKS RN. An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and emerging diseases*, 2018;65 Suppl 1:166-185.
10. LIN J, HOGAN JSSMITH KL. Growth responses of coliform bacteria to purified immunoglobulin G from cows immunized with ferric enterobactin receptor FepA. *J. Dairy Sci.*, 1999;82:86-92.
11. NRC, EBERHART RJ, NATZKE RP, *et al.* Coliform mastitis - A review. *J. Dairy Sci.*, 1979;62:1-22.
12. POUTREL B. Les mammites colibacillaires chez les vaches laitières. *Bulletin des G.T.V.*, 2010;54:17-26.
13. POUTREL B. Prévalence en France des pathogènes impliqués dans les mammites bovines selon leur sévérité. *Bulletin des G.T.V.*, 2015;79:51-54.
14. RAINARD P, CUNHA P, MARTINS RP, *et al.* Type 3 immunity: a perspective for the defense of the mammary gland against infections. *Vet. Res.*, 2020;51:129.

15. RAINARD P, GILBERT FB, GERMON P, *et al.* Invited review: a critical appraisal of mastitis vaccines for dairy cows. *J Dairy Sci*, 2021;104:10427-10448.
16. RAINARD P, REPERANT-FERTER M, GITTON C, *et al.* Shielding Effect of *Escherichia coli* O-Antigen Polysaccharide on J5-Induced Cross-Reactive Antibodies. *mSphere*, 2021;6:e01227-20.
17. RAMBAULT M, DOZ-DEBLAUWE E, LE VERN Y, *et al.* Neutrophils Encompass a Regulatory Subset Suppressing T Cells in Apparently Healthy Cattle and Mice. *Frontiers in immunology*, 2021;12:625244.
18. SMITH JL, HOGAN JSSMITH KL. Efficacy of intramammary immunization with an *Escherichia coli* J5 bacterin. *J. Dairy Sci.*, 1999;82:2582-8.
19. STEELE NM, SWARTZ TH, ENGER KM, *et al.* The effect of J5 bacterins on clinical, behavioral, and antibody response following an *Escherichia coli* intramammary challenge in dairy cows at peak lactation. *J. Dairy Sci.*, 2019;102:11233-11249.
20. TAKEMURA K, HOGAN JSSMITH KL. Growth responses of *Escherichia coli* to immunoglobulin G from cows immunized with ferric citrate receptor, FecA. *J. Dairy Sci.*, 2004;87:316-20.
21. TASHAKKORI N, KHORAMIAN B, FARHOODI MOGHADAM M, *et al.* Evaluating the effectiveness of two bovine mastitis vaccines and their influences on oxidant and antioxidant capacities of milk. *Trop. Anim. Health Prod.*, 2020;52:1493-1501.
22. TOMITA GM, RAY CH, NICKERSON SC, *et al.* A comparison of two commercially available *Escherichia coli* J5 vaccines against *E. coli* intramammary challenge. *J. Dairy Sci.*, 2000;83:2276-81.
23. VAN DIJK WC, VERBRUGH HA, VAN ERNE-VAN DER TOL ME, *et al.* *Escherichia coli* antibodies in opsonisation and protection against infection. *J. Med. Microbiol.*, 1981;14:381-9.
24. VANGROENWEGHE F, DUCHATEAU LBURVENICH C. Short communication: J-5 *Escherichia coli* vaccination does not influence severity of an *Escherichia coli* intramammary challenge in primiparous cows. *J. Dairy Sci.*, 2020;103:6692-6697.
25. WILSON DJ, GROHN YT, BENNETT GJ, *et al.* Milk production change following clinical mastitis and reproductive performance compared among J5 vaccinated and control dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2008;91:3869-79.
26. WILSON DJ, MALLARD BA, BURTON JL, *et al.* Milk and serum J5-specific antibody responses, milk production change, and clinical effects following intramammary *Escherichia coli* challenge for J5 vaccinate and control cows. *Clin Vaccine Immunol*, 2007;14:693-9.