

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA**

**Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques**

**Département de Biologie**

**MEMOIRE DE MASTER II ACADEMIQUE**

Spécialité : génétique et physiologie

**EFFETS DE L'AGENT PATHOGENE VIRAL SUR  
LA GLANDE MAMMAIRE DES BOVINS EN  
ELEVAGES LAITIERS DE LA WILAYA DE BLIDA**

Par

**BOULECHLOUCHE Kahina**

Jury :

RADI.	MAB, US.D. Blida	Présidente
GUETARNI D.	Professeur, US.D. Blida	Promoteur
BAAZIZE-AMMI D.	MAA, US.D. Blida	Co-Promotrice
MEKLAT.	MAA, US.D. Blida	Examinatrice
DJAZOULI.	MCB, US.D. Blida	Examinatrice

**Promotion 2011**

*Tout d'abord je remercie « ALLAH » le tout puissant  
de m'avoir donné la volonté, le courage et la patience  
pour terminer ce modeste travail.*

## DÉDICACE

*Je dédie ce travail :*

*A moi même pour le grand effort durant ce travail*

*A celui que je suis fière d'être sa fille mon père (allah yarahemo) qui a m'a tous donner sauf  
le plaisir de sa présence aujourd'hui*

*A la vie entière ma mère pour son encouragement et sa patience.*

*A mes chers frères et sœurs qui m'ont aidé chacun un de sa façon : la belle Wassila, Le roi  
Rachid et sa fleure Amel, le top Warda, et le prince Nabil.*

*A ma chère cousine sassia*

*A tous mes amis de Draria, Blida et les gens qui compte vraiment pour moi.*

*A mon deuxième père monsieur Mohamed Saïd.*

*A mon guide : monsieur Guetarni, et madame Baazize-Ammi.*

*Mes chères copines :wahiba et karima*

## REMERIEMENTS

*Je remercie ma famille : maman, Wassila, Rachid et Amel, Warda, Nabil qui ont tous fait pour me satisfaire et pour leurs aides*

*Je tiens à exprimer mes très sincères remerciements à mon promoteur Pr: GUETARNI Djamel pour l'encouragement les conseils la patience et le grand effort qu'il fasse avec nous comme promoteur et comme père aussi et surtout pour sa méthode de travail qui va rester comme un exemple tout au long notre vie.*

*Je remercie aussi mon adorable Co-promotrice madame BAAZIZÈ AMMI Djamila pour son soutien et son sourire qui nous aide moralement à continuer le travail malgré toutes ses difficultés.*

*Mes remerciements vont aussi :*

*Aux membres de jury.*

*Madame : RADI, Présidente*

*Madame : MEKLAT, Examinatrice*

*Madame : DJAZOULI, Examinatrice*

*À celui que je considère comme deuxième père, mon enseignant et mon guide Monsieur MOHAMED SAID .R.*

*Ainsi je remercie l'équipe de notre laboratoire de recherche :*

*Enseignants : Dr KEBBAL S, Madame MAHIEDDINE, Monsieur et Madame GHARBI, Mademoiselle TARZALI D et TADJINE N et Monsieur Amine pour leur aide, orientations et conseils.*

*Étudiants frères et sœurs : ma chère copine ma sœur Wahiba, l'ange Karima qui ma trop aidé, Amel, Malik, Abdo et tous les autres amis.*

*Je remercie également L'équipe de laboratoire d'hématologie de l'Hopital MUTAPHA BACHA : Pr ZARHOUNI et Madame ROULE.*

*L'équipe de l'institut Pasteur de Sidi Fredj, Rida, Radewane, DR Amina et l'équipe de la laiterie BAYA LAHYANI. Pour m'avoir aidé à la réalisation du présent travail avec toutes les facilités souhaitées.*

*L'équipe de BIOSCAN « Fadila, A.aziz, Mourad, Massi » et le gérant Monsieur Mohamed said pour leurs aides et compréhension.*

*A tous les gens qui m'ont aidé pour chercher le stage.*

*J'adresse un grand Merci spécialement à tous mes enseignants durant les cinq ans d'étude.*

# TABLES DES MATIERES

	PAGES
DEDICACES	
REMERCIEMENTS	
LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
RESUMES	
LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION	1
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I LA GLANDE MAMMAIRE</b>	
<b>I.1. Anatomie de la glande mammaire</b>	2
I.1.1. Anatomie externe	2
I.1.2. Anatomie interne	
<b>I.2. Mammogenèse</b>	3
I.2.1. Jusqu' à la puberté	3
I.2.2. Après la puberté	3
<b>I.3. Cycle de reproduction</b>	4
I.3.1. Les étapes de cycle annuel de production d'une vache laitière	4
<b>CHAPITRE II MAMMITES ET MODIFICATIONS DU LAIT</b>	
<b>II.1. définition</b>	6
<b>II .2.Type de mammité</b>	6
II. 2. 1. Mammites cliniques	6
II. 2. 2. Mammites sub-cliniques	6
<b>II.3. Les agents pathogènes de la mamelle</b>	7
II.3.1. Agents pathogènes majeurs	7
II.3.2. Agents pathogènes mineurs	7
<b>II.4.Evolution des mammites</b>	7

II.4.1 La phase d'invasion	8
II.4.2.Pénétration des microorganismes	8
II.4.3La phase d'infection	8
II.4.4. La phase d'inflammation	9
<b>II.5. Dépistage des mammites</b>	9
II.5.1. Comptage cellules somatique (CCS)	9
<b>II.6. L'aspect de lait mammitieux</b>	10
II.6.1. Les mécanismes impliqués dans le changement de la composition du lait	10
II.6.2. La défense cellulaire	10

## **CHAPITRE III CYTOLOGIE DES CELLULES SOMATIQUES**

<b>III.1. Définition</b>	11
<b>III.2. Types et morphologies des cellules somatiques</b>	11
III.2.1. Les cellules épithéliales	11
III.2.2. Les cellules leucocytaires	11
<b>III.3. Répartition des cellules somatiques hors et lors d'infection</b>	13
<b>III.4. Rôle des cellules somatiques</b>	14
III.4.1.Immunité non spécifique	15
III.4.2. Immunité spécifique	17

## **CHAPITRE IV LES VIRUS**

<b>VI.1. Définition</b>	17
<b>VI.2. Structure</b>	17
<b>VI.3. Familles des virus</b>	17
VI.3.1. Virus à ADN	17
VI.3.2. Virus à ARN	17
<b>VI.4. Le cycle viral</b>	18

<b>VI.5. Les étapes de cycle viral</b>	18
VI.5.1.Attachement	19
VI.5.2. Pénétration intracellulaire	20
VI.5.3. Décapsidation	20
VI.5.4. Expression et réplication du génome viral	20
VI.5.5.Assemblage, maturation et libération des virus	21
VI.5.6. Conséquences de l'infection virale	21
<b>VI.6. Les modes d'infection viraux</b>	23
VI.6.1. L'infection lytique	23
VI.6.2. L'infection lysogène	23
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
<b>CHAPITRE I MATERIEL ET METHODES</b>	24
<b>I.1.MATERIELS</b>	24
I.1.1.Matériel biologique	24
I.1.2. Matériel non biologique	24
<b>I.2.METHODES</b>	27
I.2.1. Comptages cellulaire	27
I.2.2. Caractérisation de l'effet cytopathique	30
<b>CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION</b>	33
<b>I.1. Évaluation du statut sanitaire du troupeau</b>	34
<b>II.2. Recherche de l'effet cytopathique</b>	37
II.2.1 A l'échelle individuelle	37
II.2.1 A l'échelle de troupeau	45
<b>CONCLUSION</b>	46
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>ANNEXES</b>	

## LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES ET TABLEAUX

<b>Figure 1 :</b> Les différentes parties de la mamelle.	2
<b>Figure 2 :</b> Les alvéoles et l'arbre canaliculaire.	3
<b>Figure 3 :</b> Structure simplifiée d'une cellule sécrétrice mammaire.	5
<b>Figure 4 :</b> Mammite clinique.	6
<b>Figure 5 :</b> Frottis sanguin montrant en (a) : un polynucléaire éosinophile et en (b) : un polynucléaire basophile.	12
<b>Figure 6 :</b> Frottis sanguin montrant un monocyte.	13
<b>Figure 7 :</b> Frottis sanguin montrant un lymphocyte.	13
<b>Figure 8 :</b> Cycle de multiplication viral.	18
<b>Figure 9 :</b> Transfert du matériel génétique viral à travers la membrane cellulaire.	19
<b>Figure 10 :</b> Phase précoces et tardives.	20
<b>Figure 11 :</b> L'infection lytique et l'infection lysogène.	22
<b>Figure 13 :</b> Cellule de Malassez et son quadrillage.	25
<b>Figure 14 :</b> Centrifugeuse réfrigérée.	25
<b>Figure 15 :</b> Cyto-centrifugeuse.	26
<b>Figure 16 :</b> Préparation des dilutions et coloration avec le bleu de méthylène.	29
<b>Figure 17 :</b> Schéma démonstratif de la méthode microscopique.	29
<b>Figure 18 :</b> Schéma démonstratif des étapes de lavage cellulaire.	31
<b>Figure 19 :</b> Schéma démonstratif des étapes de réalisation des préparations cellulaires.	32
<b>Figure 20 :</b> Schéma démonstratif des étapes de la coloration au MGG.	33
<b>Figure 21 :</b> Préparations cellulaires issues de laits provenant de vaches saines et de vaches atteintes de mammites.	39
<b>Figure 22 :</b> Préparations cellulaires issues de laits provenant de vaches saines primipares et multipares.	42
<b>Figure 23 :</b> Préparations cellulaires issues des laits de tank de différents statuts sanitaires.	44
<b>Tableau I :</b> Résultats de la numération cellulaire des laits d'élevages analysés.	34
<b>Tableau II:</b> Classement des échantillons selon la norme de la FIL.	35
<b>Tableau III:</b> Appréciation du statut sanitaire des élevages par classement en fonction des tranches de NCT.	36
<b>Tableau IV:</b> Résultats des numérations cellulaires obtenues à partir des 15 laits de vaches.	37

## RESUME

La caractérisation des agents pathogènes bactériens responsables de mammites en élevages bovins laitiers est souvent actualisée par des études alors qu'aucune donnée n'est disponible concernant les mammites virales. La présente étude est une contribution au diagnostic de l'infection virale de la glande mammaire par la mise en évidence de l'effet cytopathique des agents pathogènes viraux sur les cellules somatiques du lait.

Les résultats de l'évaluation du statut sanitaire des troupeaux par la numération cellulaire ont permis de classer les élevages en satisfaisant (6,8%), préoccupant (38,6%) et alarmant (54,5%). En effet, aucun élevage ne présente de bon statut sanitaire et la présente situation montre que les mammites cliniques et subcliniques représentent la principale pathologie.

Les résultats de la recherche de l'effet cytopathique ont révélé :

- un aspect cellulaire normal pour les vaches saines et un aspect cellulaire anormal se caractérisant par des modifications morphologiques (cytoplasme clair, absence totale d'intégrité cellulaire et lyse cellulaire) pouvant s'expliquer par la multiplication de pathogènes viraux dans la glande mammaire pour les vaches malades ;
- la présence de cellules aux contours réguliers pour les élevages au statut sanitaire satisfaisant et l'absence d'intégrité cellulaire traduisant une multiplication intracellulaire d'agents pathogènes viraux pour les élevages au statut sanitaire préoccupant et alarmant.

L'effet cytopathique mis en évidence dans les cellules somatiques du lait de troupeaux infectés et de vaches malades (mammites subcliniques et cliniques) traduit la présence de l'infection virale qu'il faut confirmer par la caractérisation des principaux agents pathogènes par biologie moléculaire.

**Mots clés :** Cellules somatiques, Lait, Effet Cytopathique, Agent pathogène viral, Vache, mammite.

## ABSTRACT

The characterization of the agents responsible for bacterial mastitis in the dairy bovine breeding is often brought up to date by studies whereas no data is available concerning the viral mastitis. The present study is a contribution to the diagnosis of the viral infection of the gland mammary gland by the cytopathic description of the effect of the viral pathogenic agents on the somatic cells of milk.

The results of the evaluation of the medical statute of the herds by cellular numeration made it possible to classify the breedings while satisfying (6,8%), previous occupant (38,6%) and alarming (54,5%).Indeed, no breeding presents of good medical statute and the present situation shows that the clinical and subclinic mastitis represent principal pathology.

The results of the cytopathic research of the effect revealed:

- A normal cellular aspect for the healthy cows and an abnormal cellular aspect being characterized by morphological modifications (clear cytoplasm, total absence of cellular integrity and cellular lysis) being able to be explained by the multiplication of pathogenic viral in the mammary gland for the sick cows;
- The presence of cells to regular contours for the breeding with the medical statute satisfying and the cellular absence of integrity representing an intracellular multiplication of viral pathogenic agents for the breeding with the medical statute previous occupant and alarming.

The effect cytopathic highlighted in the somatic cells of the milk of infected herds and sick cows (subclinical and clinical mastitis) translated the presence of the viral infection which it is necessary to confirm by the characterization of the principal pathogenic agents by molecular biology.

**Key words** : Somatic cells, Milk, Cytopathic Effect, pathogenic viral Agent, Cow, Mastitis.

## المخلص

في كثير من الدراسات يتم وصف العوامل البكتيرية في التهاب الضرع في مزارع الأبقار الحلوب، بينما لا تتوفر بيانات بشأن التهاب الضرع الفيروسي.

هدف هذه الدراسة هو المساهمة في تشخيص العدوى الفيروسية في الغدة الثديية. من خلال تسليط الضوء على تأثير الأمراض الفيروسية، بمتابعة اعتلال الخلايا الجسدية في الحليب المسببة من طرف هذه الفيروسات.

نتائج تقييم الحالة الصحية للقطيع من خلال حساب عدد الخلايا، سمحت بتصنيف حالة المزارع إلى: مرضية بنسبة 6.8%، مقلقة بنسبة 38.6%، خطيرة بنسبة 54.5%. وبذلك نجد أنه لا توجد أي حالة صحية جيدة. هذا التقييم يظهر أن التهاب الضرع تحت الإكلينيكي و الإكلينيكي يمثل المرض الأساسي.

نتائج البحث عن الاعتلال الخلوي أظهر حالة خلوية طبيعية لحليب البقر السليم، خالة خلوية غير طبيعية تتميز باختلافات مورفولوجية ( سيتوبلازم فارغ، خلايا متلفة ) وهذا يمكن شرحه بالتكاثر الفيروسي بالنسبة لحليب الأبقار المريضة. وجود خلايا سليمة في حليب مجموعة الأبقار ذات الحالة الصحية المرضية وغياب الصحة الخلوية في الحالة الصحية المقلقة و الخطيرة تفسر بالتكاثر الفيروسي داخل الخلايا.

الاعتلال الخلوي المثبت في الخلايا الجسمية لخليط حليب المزارع المصاب و حليب البقر المريض ( تحت الإكلينيكية و الاكلينيكية ) يترجم حضور العدوى الفيروسية التي يجب تحديد صفات فيروساتها بالبيولوجيا العضوية.

**الكلمات المفتاحية:** الحليب، الخلايا الجسدية، التهاب الضرع، فيروس، الاعتلال الخلوي.

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**CCS**: Comptage des cellules somatiques

**NCT** : Numération Cellulaire de Tank

**PMN** : Polymorphonucléaire Neutrophile

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ECP** : Effet Cytopathique

**MGG** : May Grunwald Giemsa

**NI** : Non Identifié

**FIL** : Fédération Internationale des Laiteries

**VS** : versus

**MADR** : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

## INTRODUCTION

Les infections mammaires constituent une pathologie importante des élevages bovins laitiers Algériens puisqu'elles concernent pratiquement une vache sur deux (50,6%) (MADR, 2002). L'impact économique de cette maladie d'élevage a été estimé en Europe entre 5 et 26 euros par vache et par an, en ne prenant pas en considération le manque à gagner tel que la baisse de production et la diminution des performances zootechniques (VANDERSTOCKEN, 2000 ; RYCHEMBUSH, 2005).

L'infection mammaire peut être d'origine bactérienne, virale ou mycosique et quelque fois traumatique. De nombreux travaux ont rapporté que les infections virales peuvent jouer un rôle direct ou indirect dans l'étiologie de la mammite et que de nombreux agents pathogènes viraux ont été détectés dans le lait de vaches atteintes de mammites cliniques et subcliniques ou de lésions de la peau et du canal du trayon (WELLENBERG, 2002 et KALMAN, 2004). En Algérie et à ce jour, de nombreux travaux ont porté sur l'aspect bactériologique de l'infection mammaire sans s'intéresser à l'infection virale (BELKHIRI et al 1993 ; GHAZI 1997 ; FERNANE 2000 ; GHARBI 2002 ; BEROUAL 2003 ; BOUAZIZ 2012).

Dans l'état actuel des connaissances, il semble exact et commode de définir la mammite comme une inflammation de la glande mammaire caractérisée par l'existence d'un nombre élevé des cellules somatiques dans le lait (RADOSTITS et al 1997) ; cette augmentation est, dans presque tous les cas, une réaction du tissu mammaire à l'agression (BADINAND 2001 ; SAAD et al 1990). Le taux d'infection du troupeau peut être estimé à travers la numération des cellules somatiques du lait qui est une des méthodes de diagnostic de l'état sanitaire de la mamelle.

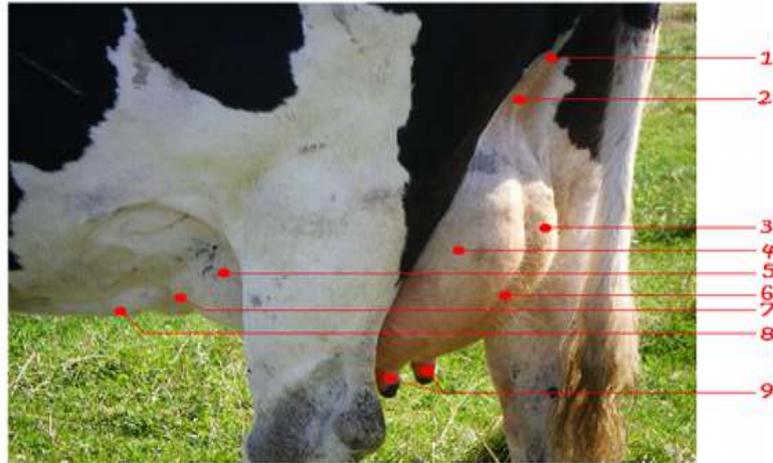
Le présent travail est une contribution au diagnostic de l'infection virale par la mise en évidence des modifications morphologiques (effet cytopathique) des cellules du lait (cellules épithéliales) dus à la multiplication intracellulaire des agents pathogènes viraux.

# CHAPITRE I : LA GLANDE MAMMAIRE

## I.1. Anatomie de la glande mammaire :

La glande mammaire est une glande à sécrétion externe. Elle comprend une

### I.1.1. Anatomie externe



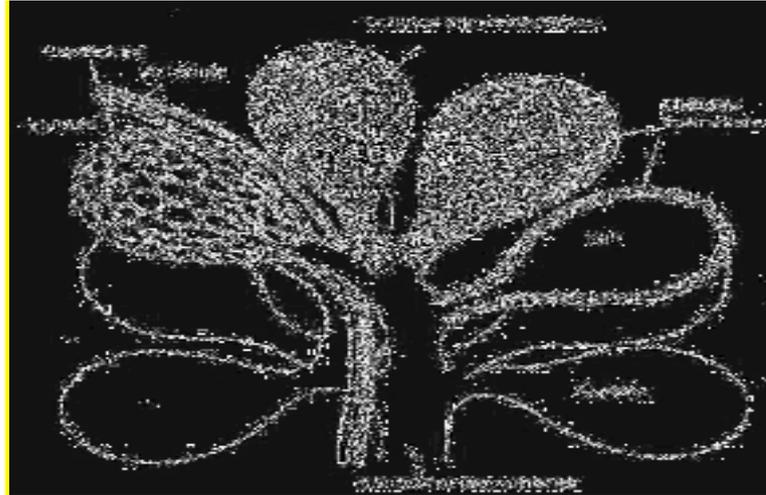
**Figure 1 :** Les différentes parties de la mamelle ([www.princesse-lavache.com](http://www.princesse-lavache.com)).

1 : Attache arrière de la mamelle ; 2 : Ligament de suspension ; 3 : Quartier arrière droit ; 4 : Quartier arrière gauche ; 5 : Quartier avant gauche ; 6 : Ligament de suspension ; 7 : Attache avant de la mamelle ; 8 : Veines mammaires ; 9 : Trayons arrières

### I.1.2. Anatomie interne

La mamelle est constituée d'un tissu épithélial et d'un stroma comprenant des tissus annexes adipocytes, tissus conjonctifs, tissus musculaires, vaisseaux sanguins et lymphatiques et des terminaisons nerveuses.

La structure épithéliale est constituée d'alvéoles, ou acini, groupées en lobule, eux-mêmes rassemblés en lobes (Cf. figure 2). Cette structure sécrétoire est drainée par un réseau de canalicules et de canaux intra et inter lobulaire et lactifères qui convergent dans le sinus galactophore, appelé aussi citerne du lait. Le sinus lactifère s'ouvre sur l'extérieur par un canal unique du trayon, ou conduit papillaire, entouré par le sphincter du trayon (MAYER et al ; 1999).



**Figure 2 :** Les alvéoles et l'arbre canaliculaire (MAYER et al ; 1999).

## **I.2. Mammogenèse**

Deux grandes étapes du développement de la mamelle, liées à la puberté de l'animal peuvent être identifiées (MEYER et al; 1999).

### **I.2.1. Jusqu' à la puberté**

A la naissance, les ébauches de mamelle sont identiques chez le male et chez la femelle. Chez le male, la période juvénile entraîne le repos définitif de la glande. Chez la femelle, en revanche, on observe un développement très lent du tissu conjonctif accompagné d'un dépôt de matières grasses (MEYER et al; 1999).

### **I.2.2. Après la puberté**

Le développement de la mamelle dépend de l'activité sexuelle de la femelle. En l'absence de gestation, on observe une évolution cyclique de la mamelle, avec prolifération des acini durant le post-œstrus.

**\*Lors de la gestation**, le développement est réduit jusqu'au 4<sup>e</sup> mois. A partir du 4<sup>e</sup> mois, le tissu épithélial se développe, puis le tissu glandulaire, au 5<sup>e</sup> ou au 6<sup>e</sup> mois. Le liquide sécrété se transforme peu à peu en colostrum. Quelques jours avant le vêlage, on peut observer une montée laiteuse.

**\*Pendant la lactation**, la mamelle continue à se développer durant les deux premiers mois, puis les acini régressent et le tissu alvéolaire est détruit à la fin de la lactation. Lorsque la

femelle entre dans un nouveau cycle de reproduction, une nouvelle structure alvéolaire se différencie.

\***Lors du vieillissement**, les acini disparaissent progressivement, laissant seulement des canaux galactophores plus ou moins atrophiés (MEYER et al; 1999).

### **I.3. cycle de reproduction**

#### **I.3.1. Les étapes de cycle annuel de production d'une vache laitière**

Le cycle de production d'une vache laitière est divisé en deux grandes étapes : la lactation ou bien la phase d'activation, et le tarissement ou bien la phase de repos.

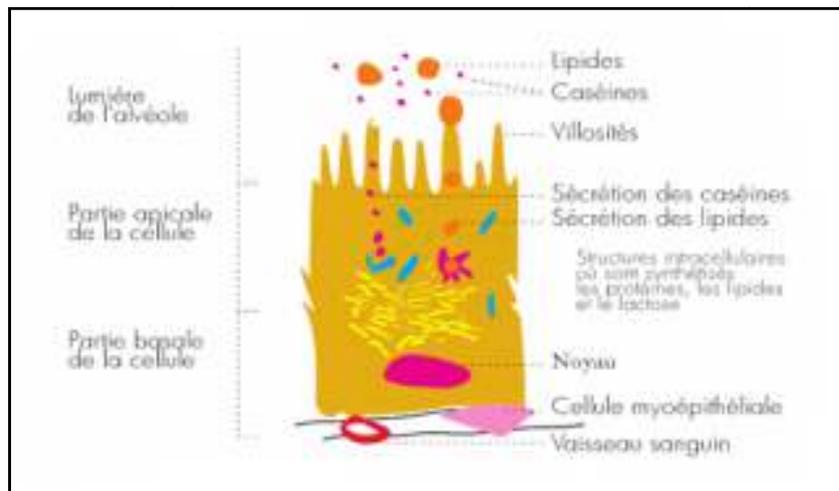
#### **A. La Lactation**

C'est la phase finale du cycle de reproduction de la vache d'une durée moyenne de 10 mois. La sécrétion lactée est caractérisée par la succession de deux périodes :

\*Le déclenchement appelé **la lactogénèse** : commence bien avant le vêlage et consiste essentiellement en des modifications biochimiques et cytologiques (DOSOGNE et al; 2000).

En fait, durant la colostrogénèse, les cellules alvéolaires qui sont multipliées et différenciées lors de la gestation, achèvent leur développement juste dans les heures qui précèdent la mise bas et acquièrent donc tout l'équipement enzymatique et les organites cellulaires nécessaires à la synthèse du colostrum et de la sécrétion lactée (Cf .figure3)

\*L'entretien appelé **la galactopoièse** : Ces deux périodes sont soumises, à l'action contrôlée, et séquentielle de différentes hormones (GHARBI; 2002). Elle correspond à l'optimisation de la synthèse du lait et l'entretien de sa sécrétion. A ce stade, les lactocytes ne peuvent plus se multiplier et entrent en pleine activité excrétoire (DOSOGNE et al; 2000).



**Figure 3:** Structure simplifiée d'une cellule sécrétrice mammaire (Institut de l'élevage.2009).

### **A1. Physiologie de la lactation**

Durant toute la gestation, sous l'action de la prolactine associée à celle d'autres hormones, la glande mammaire se développe au profit du tissu épithélial mammaire. Parallèlement, les taux élevés d'œstrogènes et de progestérone durant cette période inhibent l'action directe de la prolactine sur la glande mammaire empêchant ainsi la sécrétion lactée. Après le vêlage, la chute des taux d'œstrogènes et de progestérone permet le démarrage de la lactation. Le taux de prolactine chute après la mise bas mais ré-augmente après chaque tétée par stimulation du mamelon, permettant ainsi le maintien d'un taux basal (BRION et al; 2003).

### **A2. Composition du lait**

C'est un liquide opaque, blanc mat constitué d'un certain nombre d'éléments en solution ou en suspension dans l'eau. Il contient aussi, des cellules et des microbes. Les cellules (de 20 000 à 30 000 par ml) sont d'origine sanguine (leucocytes) et mammaire. Tout état pathologique modifie leur nombre et leur nature, d'où l'intérêt de les connaître et de les surveiller (FANICA; 2008).

### **B. Le tarissement**

L'involution normale du tissu alvéolaire au cours de la lactation est plus ou moins rapide selon les espèces. Elle est de 3 à 4 semaines chez la vache. Le tissu alvéolaire est remplacé par du tissu adipeux dans lequel se développera une nouvelle masse glandulaire au cours du cycle de reproduction suivant (THIBAUT et al ; 2001).

## CHAPITRE II : MAMMITES ET MODIFICATIONS DU LAIT

### II.1. définition

La mammite est l'état inflammatoire d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle quelle que soit l'origine traumatique, physique, chimique ou biologique (SCHEPERS et al; 1997). Dans l'espèce bovine, les quartiers sont indépendants vis-à-vis de l'infection. Le lait contenu dans les quartiers non infectés est normalement sain (POUTREL; 1992)

### II.2. Type de mammite

On peut distinguer deux grands types de mammites selon la gravité d'infection ; mammites cliniques et sub-cliniques.

#### II.2.1. Mammites cliniques

Les mammites cliniques sont une inflammation très brutale de la mamelle. La mamelle est alors extrêmement congestionnée, douloureuse, chaude et volumineuse (Cf. figure 4). La sécrétion lactée est soit interrompue, soit très modifiée et présente alors un aspect séreux, aqueux ou hémorragique (POUTREL ; 1986).

Les formes cliniques sont classées habituellement d'après leurs gravités et leurs évolutions :



**Figure 4** : mammite clinique (GOURREAU ; 1995).

\*Mammites suraiguës : signes visibles et généraux grave tels que fièvre, perte d'appétit

\*Mammites aiguës : signes visibles et généraux moins graves

\*Mammites chroniques : fluctuation et persistance (GOURREAU ; 1995).

### **II.2.2. Mammites sub-cliniques**

Lors des mammites sub-cliniques l'inflammation est modérée, elle ne présente aucun des signes précédemment évoqués : l'état général est normal, la mamelle cliniquement saine et le lait ne présente aucune modification macroscopique. Par contre l'examen cytologique et bactériologique du lait met en évidence une augmentation parfois considérable du nombre des polynucléaires. De même, son analyse biochimique révèle des modifications importantes de la composition du lait (NIELSEN et al; 1995).

### **II.3. Les agents pathogènes de la mamelle**

Il est courant de distinguer deux types d'agents pathogènes pour la mamelle de la vache :

#### **II.3.1. Agents pathogènes majeurs**

Ils sont responsables aussi bien des mammites sub-cliniques que des mammites cliniques. Par la fréquence, la persistance ou la sévérité des infections qu'ils provoquent, trois espèces bactériennes ont une importance capitale : *Staphylococcus aureus*, des espèces de *Streptococcus* et des *Entérobactéries* notamment *E. coli*, *Klebsiella sp.* On leur adjoint parfois des agents plus rares comme *Actinomyces pyogènes*, *Bacillus cereus*, *Mycoplasma bovis*, *Nocardia asteroides*. (BADINAND; 1994).

#### **II.3.2. Agents pathogènes mineurs**

Ils entraînent le plus souvent une réaction modérée de la mamelle, se comportant à la limite entre les agents saprophytes et les agents pathogènes. Cependant, ils peuvent être parfois à l'origine de mammites cliniques aiguës; il s'agit en particulier, parmi les plus fréquents de *Micrococcus varians*, *Actinomyces pyogènes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella hemolytica*, *Corynébactérium bovis*, divers *Bacillus*, *Cryptococcus neoformans* et des levures (BOUCHOT et al; 1985).

### **II.4. Évolution des mammites**

L'établissement de l'infection et le déclenchement de la mammite dépendent à la fois de la virulence des microorganismes et des capacités de la défense naturelle ou induite de l'hôte. La sensibilité de la mamelle aux infections est liée à la période péripartum (colostrogénèse) et au début de lactation. À cette période, l'activité fonctionnelle des polynucléaires est limitée (PAAPE et al.1999), la protection à la lactoferrine s'affaiblit, l'ouverture du sphincter et l'écoulement du lait peuvent favoriser la diffusion de l'infection (FABRE et al ; 1997,

MEISSONNIER ; 1995). L'infection peut guérir spontanément ou évoluer vers une forme plus sévère avec des signes cliniques (mammite clinique) ou bien encore persister sous une forme inapparente (mammite subclinique) (POUTREL ; 1985). Plusieurs étapes se succèdent lors du processus infectieux :

#### **II.4.1 La phase d'invasion**

Elle se déroule en deux étapes :

##### **A. Exposition de la mamelle à l'agent pathogène**

L'infection de la mamelle par voie endogène est exceptionnelle, en général le processus infectieux commence par la contamination de l'extrémité du trayon surtout entre les traites ou pendant la traite et cela peut être dû par plusieurs facteurs :

**\*Les facteurs de l'environnement :** les logements, le climat et la litière jouent un rôle déterminant. Ils peuvent, dans des circonstances défavorables, contribuer à la multiplication des bactéries dans le milieu extérieur.

**\*La morphologie de la mamelle et ces trayons :** il a été démontré que la contamination du trayon est largement influencée par sa morphologie ainsi que celle de la mamelle. D'une manière générale, les mamelles pendulaires, les longs trayons et les trayons cylindriques réduisent les distances par rapport au sol et augmentent les risques de traumatismes accidentels. Or, les lésions ainsi créées constituent des réservoirs de microorganismes qui augmentent les probabilités d'infection des quartiers (POUTREL; 1985).

##### **B. Pénétration des microorganismes**

Les germes pathogènes pénètrent dans la glande par le canal du trayon. L'ouverture du sphincter étant maximale à la fin de la traite, c'est lors de la traite et dans la demi-heure suivant celle-ci qu'a lieu la majorité des infections (NOIRETERRE; 2006).

#### **II.4.2. La phase d'infection**

C'est le stade où les germes passent de la partie inférieure du sinus du trayon au sinus de la mamelle, aux canaux et canalicules lactifères et finalement aux acini mammaires. Les germes vont coloniser la mamelle et les enzymes et les toxines qui sont élaborées lors de leur multiplication vont d'une part entraîner des lésions du tissu sécrétoire qui a pour conséquence des modifications quantitatives et qualitatives de la production, d'autre part, initier une réaction inflammatoire dans la composante principale est l'afflux de polynucléaires neutrophiles (WEISEN ; 1974).

### **II.4.3. La phase d'inflammation :**

L'inflammation est la réponse de l'organisme face aux germes. Rapidement, il met en fonction un ensemble de mesures bien adaptées à l'importance de l'agent agresseur, aux dommages cellulaires et tissulaires. Cette réaction inflammatoire est caractérisée par la sécrétion locale de substances immunitaires (cytokines) et par l'augmentation de la perméabilité de l'épithélium des alvéoles, préalable à l'afflux dans le lait de cellules phagocytaires et de diverses substances (Immunoglobulines, complément, lactoferrine...) en provenance de la circulation sanguine (FAROULT ; 2000).

### **II.5. Dépistage des mammites**

Les numérations cellulaires sur le lait permettent d'identifier précisément les vaches du troupeau atteintes d'infections mammaires en vue notamment de limiter la contagion aux autres vaches et d'établir certaines priorités dans les mesures de lutte à appliquer (RUPP et al ; 1985).

#### **II.5.1. Comptage cellules somatiques (CCS) et leur importance dans la gestion des mammites**

Dans le lait bactériologiquement négatif, on trouve les cellules suivantes : principalement des macrophages, des polynucléaires neutrophiles, des lymphocytes et des cellules épithéliales (BERGONIER et al ; 2003). Lors de processus inflammatoire de la mamelle, les cellules somatiques restent les mêmes mais dans des proportions différentes. Les comptages de ces cellules peuvent être réalisés soit par :

##### **A. Comptage des cellules somatiques du lait individuel**

La valeur moyenne du CCS individuel pour des mamelles non infectées de vache en milieu de lactation s'étale entre 100 000 et 300 000 cellules par millilitre. Les principaux facteurs de variation du CCS pour une mamelle saine sont par ordre décroissant de fréquence : le stade de lactation, l'âge ou le rang de lactation, les variations journalières (traite du matin -traite du soir), les fractions de lait à la traite et le potentiel laitier (LAGRIFFOUL et al ; 1996).

##### **B. Comptage cellules somatiques du lait de tank (NCT)**

Selon SERIEYS (1985), le taux cellulaire de tank permet de situer l'état général du troupeau. Tandis que Le Roux (1999) donne un classement de l'état sanitaire du troupeau par rapport au taux cellulaire :

- < 200 000 cellules/ml (cellules/ml) : l'état sanitaire du troupeau est bon.
- Compris entre 200 000 et 400 000 cellules/ml : l'état sanitaire du troupeau est moyen.
- Compris entre 400 000 et 600 000 cellules/ml : l'état sanitaire du troupeau est préoccupant.
- > 600 000 cellules/ml : De nombreuses reformes sont à prévoir.

## **II.6. L'aspect de lait mammitieux**

La mammite a une incidence sur le niveau de production du lait de la vache affectée. En plus, la teneur en caséine, en matière grasse et en lactose est moindre, l'inflammation affectant la synthèse de ces constituants. Par contre, les protéines sériques, les minéraux et le pH augmentent en raison du passage des ces éléments du sang vers le lait (VIGNOLA; 2002).

### **II.6.1. Les mécanismes impliqués dans le changement de la composition du lait**

**\*Une baisse des synthèses :** de nombreux composants du lait sont spécifiquement synthétisés par les lactocytes lors de l'inflammation de la glande mammaire, les disponibilités en substrat et en énergie peuvent être limitant (HADDADI ; 2005).

**\*Une augmentation de la perméabilité de la barrière épithéliale sang - lait :** La réaction inflammatoire entraîne l'augmentation du flux sanguin au niveau du site de l'infection. Le passage du sang vers le lait se fait grâce à la libération d'enzymes lysozymales, d'hydrolases acides et d'autres produits telles que les collagénases qui endommagent indirectement les tissus, surtout après la mort des leucocytes (TARGOWSKI ; 1983).

**\*Une augmentation des activités enzymatiques :** dans le lait la protéolyse a deux origines principales : bactérienne ou native (FAIRBAIRN et al ; 1986, GRIEVE et al ; 1985). Qui a un rôle direct ou indirect sur la dégradation des caséines.

### **II.6.2. La défense cellulaire**

Après que les agents pathogènes ont pénétré le canal de trayon, les cellules résidentes et les cellules nouvellement recrutées dans la mamelle vont jouer un rôle pivot dans le contrôle de l'infection. Les agents pathogènes agissent sur le recrutement des leucocytes directement ou indirectement par l'intermédiaire de facteurs chimiotactiques, tels que les entérotoxines ou les composés de la paroi bactérienne. Si les bactéries sont capables de résister à la première réponse leucocytaire, alors l'inflammation de la glande mammaire continue avec la migration des cellules somatiques à travers les cellules épithéliales sécrétrices (SORDILLO et al ; 1997).

## **CHAPITRE III : CYTOLOGIE DES CELLULES SOMATIQUES**

### **III.1. Définition**

On désigne par le terme "cellules somatiques du lait"(du grec soma =corps) les cellules du corps qui sont présentes dans le lait (SCHALM et al ; 1968). Elles sont, en effet, essentiellement constituées de globules blancs de la circulation sanguine et de cellules épithéliales provenant de la desquamation des épithéliums des canaux galactophores, des acini et lors de l'érosion du tissu glandulaire (LEPAGE ; 1999).

### **III.2. Types et morphologies des cellules somatiques**

La mise en évidence des cellules somatique remonte à 1910 grâce aux travaux de Prescott et Breed. Néanmoins, l'utilisation de la microscopie a permis de distinguer deux grandes catégories principales (LEE et al ; 1980):

- Les cellules épithéliales,
- Les leucocytes

#### **III.2.1. Les cellules épithéliales**

Elles proviennent de la desquamation de l'épithélium des canaux galactophores et des acini et sont souvent lysées. Leur taille, leur morphologie, leur noyau et le contenu de leur cytoplasme les font souvent confondre aux macrophages. A l'exception des cellules sécrétrices, elles sont généralement de petite taille (10 à 20 µm) (POUTREL ; 1986).

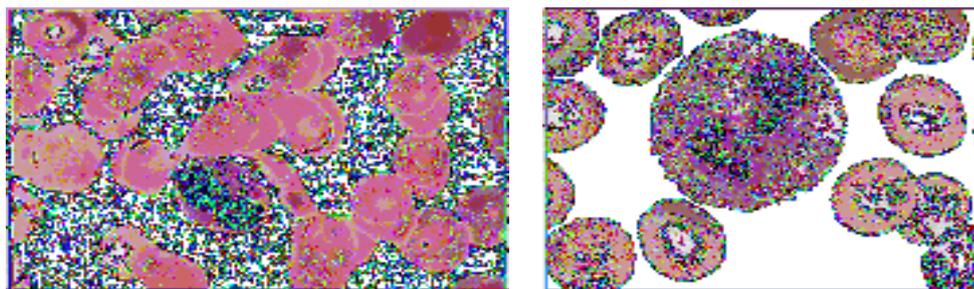
#### **III.2.2. Les cellules leucocytaires**

Ceux sont les globules blancs ou leucocytes qui ont migrés à partir du compartiment sanguin. Il existe trois types différents de leucocytes :

- \* les polymorphonucléaires (neutrophiles, éosinophiles, et basophiles),
- \* les monocytes (représentés essentiellement par les macrophages),
- \* les lymphocytes.

#### **A. Les polymorphonucléaires**

Ils sont de trois types : les neutrophiles, les éosinophiles et basophiles. Les plus nombreux sont les neutrophiles. Les polymorphonucléaires (PMN) sont des cellules à noyau polylobés dont le diamètre est de 7,5 à 10 µm (Cf .figure 5) (CULLEN ; 1966).



**Figure 5:** Frottis sanguin montrant en (a) : un polynucléaire éosinophile et en (b) : un polynucléaire basophile (ERIK ; 1997).

Les PMN matures sont des cellules différenciées qui ne peuvent pas se multiplier. Elles ont un diamètre de 7 à 10  $\mu\text{m}$  dans le lait de vache (MC DONALD et al 1981). Le rapport nucléoplasmique est faible (environ 0,3), le noyau est formé de masses arrondies de contour plus au moins régulier et reliées par des filaments d'épaisseur inégale. Les PMN immatures se reconnaissent au faible nombre de lobes voire à l'absence de segmentation.

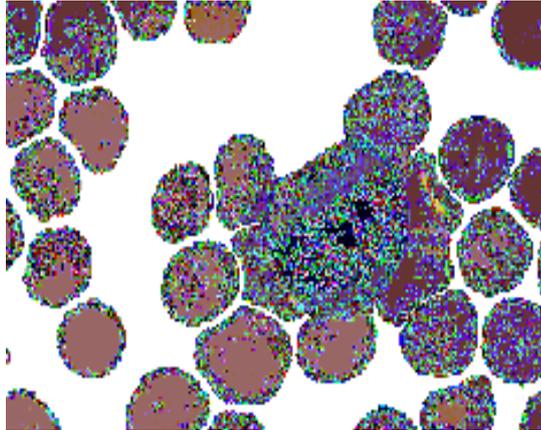
Spécialisés dans la phagocytose, les PMN sont très riches en lysosomes (granules qui contiennent des enzymes lytiques). Si leur forme ressemble à celle observée dans le sang, leur contenu peut être largement modifié. Nombre d'entre eux, présentent des vacuoles contenant des globules de matières grasses et de la caséine (SCHALM ; 1971).

### **B. Les phagocytes mononucléaires (monocytes et macrophages)**

Ce sont de grosses cellules avec un diamètre de 15 à 24  $\mu\text{m}$ , dont le cytoplasme contient un appareil enzymatique très développé. Leur pouvoir phagocytaire vis à vis des globules gras, des débris cellulaires et des bactéries est intense. Elle présente le type majoritaire de la mamelle saine (CRAVEN ; 1985, SORDILLO et al. 1997).

En l'absence d'infection du quartier, les macrophages représentent le type cellulaire dominant du lait. Les macrophages sont capables de phagocytose et participent à la réponse immunitaire spécifique en jouant un rôle dans le déclenchement et l'expression des réponses immunitaires. Ceux sont aussi des cellules sécrétrices des facteurs du complément (PAAPE ; 2003).

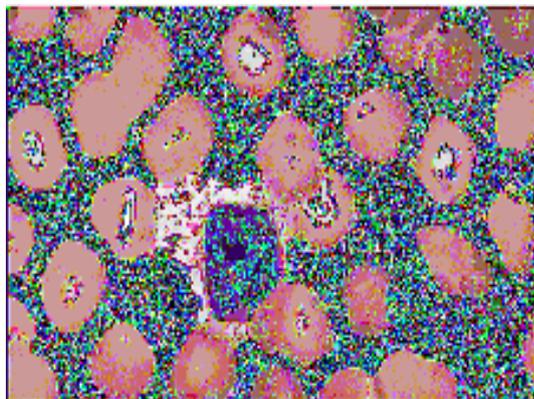
Le monocyte est généralement de forme sphérique et les limites cytoplasmiques sont nettes (Cf.figure 6), le cytoplasme contient de très nombreuses granulations azurophiles (REVILLARD; 1998).



**Figure 6 :** Frottis sanguin montrant un monocyte (ERIK ; 1997).

### **C. Les lymphocytes**

Les cellules B et les cellules T sont les deux principaux types de lymphocytes capables de reconnaître les antigènes grâce à des récepteurs membranaires spécifiques. Leur diamètre est de 5 à 7  $\mu\text{m}$  (Cf. figure 7). Un déficit des lymphocytes B serait observé dans le sang des vaches avec une mammite. Les lymphocytes B et T se différencient dans des organes lymphoïdes primaires différents. Une partie de ces cellules migre par la circulation sanguine vers les organes lymphatiques secondaires. De nombreux lymphocytes matures peuvent survivre plusieurs années et jouer le rôle de cellules-mémoire (ROITT et al ; 1994).



**Figure 7 :** Frottis sanguin montrant un lymphocyte (ERIK ; 1997).

### **III.3. Répartition des cellules somatiques hors et lors d'infection**

Chez la vache, la répartition des types cellulaires varie en fonction du stade physiologique de la lactation et également du statut infectieux de la mamelle (tableau 1): (.BERGONIER et al ; 1994).

**Tableau I:** Répartition (en%) des différents types cellulaires dans le lait de vache en l'absence et en présence d'infection mammaire (LEE C.S et al.1980)

Type cellulaire	Mamelle	
	saine	infectée
Polynucléaires neutrophiles	0 - 11	50 - 90
macrophages	66 - 88	0,2 - 2
lymphocytes	10 - 27	2,8 - 5,1

#### **III.4. Rôle des cellules somatiques :**

La glande mammaire est protégée par deux mécanismes de défenses distinctes. Ceux sont les deux types d'immunité qui fonctionnent côte à côte pour fournir une protection contre les germes impliqués dans les mammites (DJABRI ; 1999):

##### **III.4.1. Immunité non spécifique**

Elle constitue le système de défense prédominant aux premiers stades de l'inflammation. Elle est représentée par :

**A. La défense non cellulaire :** le canal du trayon, le complément ....ect (Arfi et ; 1995)

**B. La réponse cellulaire :**

**B1. Cellules épithéliales :**

Les cellules épithéliales constituent une vraie barrière de défense non spécifique, car leur stimulation se fait, soit par contact direct avec les bactéries (adhérence) ou soit par l'intermédiaire de métabolite irritant ou de toxines bactériennes. Les cellules épithéliales réagissent en synthétisant des cytokines pro-inflammatoires, qui sont douées de propriétés chimiotactiques pour les polynucléaires car elles induisent un signal inflammatoire capable d'attirer les polynucléaires neutrophiles jusqu'au lait (RIOLLET ; 1999).

**B2. Les cellules phagocytaires**

**\*Rôle des polymorphonucléaires sur le site de l'infection**

Les PMN constituent une des premières lignes de défense contre les agents pathogènes. Le PMN joue notamment un rôle critique dans la défense de l'organisme contre les infections

bactériennes et fongiques. Le PMN pourrait également jouer un rôle protecteur dans certaines infections virales. Lors d'une infection, il y a une migration massive des polynucléaires neutrophiles dans la glande mammaire par le phénomène de la diapédèse (BURVENICH et al ; 1999). Ils fournissent la première ligne de défense immunologique contre les invasions bactériennes et deviennent le type cellulaire majoritaire dans le lait des glandes mammaires infectées (SMITH et al ; 1999). Ces étapes font intervenir l'adhérence du PMN à la cellule endothéliale, le déplacement vers le site infectieux, le contact avec la bactérie suivie de phagocytose ou de bactéricide par des mécanismes dépendants ou indépendants de l'oxygène. Sur le site de l'infection, le rôle des PMN est de phagocyter et de tuer les bactéries pathogènes.

En conclusion, Les polynucléaires neutrophiles peuvent causer une réaction inflammatoire qui a pour résultat l'élimination de l'infection, mais aussi des dommages tissulaires par la libération des enzymes granulaires qui mènent à la fibrose et à l'altération de la fonction mammaire (BEN HASSEN et al ; 2003).

#### **\*Rôle des macrophages dans le lait**

Les macrophages jouent un rôle dans les défenses non spécifiques précoces par la phagocytose en ingérant des bactéries et des débris cellulaires. La destruction des microorganismes par la libération des radicaux oxygénés libres est probablement minoritaire, du fait de la faible pression en oxygène du lait. D'autres mécanismes pourraient intervenir, la simple adhésion des germes aux macrophages déclenchant la sécrétion d'un grand nombre de composés (LAGRANGE ; 1987).

### **III.4.2. Immunité spécifique**

En revanche, l'immunité spécifique fait intervenir des déterminants antigéniques qui facilitent l'élimination des agents pathogènes.

Elle est pivotée par :

**A. Les substances non cellulaires :** les anticorps.

**B. La réponse cellulaire :** les macrophages et plusieurs types de lymphocytes.

#### **B1. Rôle des lymphocytes**

Les lymphocytes T et B migrent aussi au lieu de l'infection. Ils fournissent des défenses à médiation humorale et cellulaire.

Les lymphocytes T du lait ont un phénotype de cellules sensibilisées et cytotoxiques. Les lymphocytes B jouent un rôle dans la synthèse d'immunoglobulines par les cellules plasmocytes et de lymphokine par les lymphocytes "T" cytotoxiques (FAROULT ; 1994 ; HILLION et al ; 1985 ; Mc DONALD et al ; 1981). Les lymphokines sont des signaux inflammatoires capables d'attirer les polynucléaires jusqu'au lieu de l'inflammation (KUCK et al ; 1990).

## **B2. Rôle des macrophages**

Les macrophages sont capables de phagocytose et participent à la réponse immunitaire spécifique en jouant un rôle dans le déclenchement et l'expression des réponses immunitaires (digestion et présentation de l'antigène). Ceux sont aussi des cellules sécrétrices des facteurs du complément (PAAPE; 2003).

## **CHAPITRE IV : LES VIRUS**

### **IV.1. Définition**

Les virus sont des entités dont le génome est un élément d'acide nucléique, qui se reproduisent à l'intérieur de cellules vivantes en utilisant le mécanisme synthétique de ces cellules pour diriger la synthèse de particules spécialisées (les virions) qui contiennent le génome viral et le transfèrent à d'autres cellules (HERVE et al ; 2009).

### **IV.2. Structure**

Le virus est constitué :

- \* D'un génome constitué d'un acide nucléique (ARN ou ADN) porteur de l'information génétique, bicaténaire ou monocaténaire, linéaire ou circulaire, segmenté ou non segmenté (MAMMETTE ; 2002).

- \* D'une capside, structure protéique, qui protège l'acide nucléique ; l'ensemble acide nucléique-capside est appelé nucléocapside.

- \* D'une enveloppe parfois présente (HERVE et al ; 2009).

### **IV.3. Familles des virus**

#### **IV.3.1. Virus à ADN :**

Il existe deux catégories de virus à ADN. Les virus à ADN monocaténaire sont très nombreux chez les animaux et les bactéries, rares chez les végétaux, par exemple les phages M13 qui parasitent les cellules procaryotes, les geminivirus qui parasitent les cellules végétales, ou chez les animaux, les parvirus (virus des rongeurs), les densovirus (virus des arthropodes), les adénovirus (virus des mammifères). Les virus à ADN bicaténaires sont par exemple les adénovirus (dont l'ADN est linéaire), le virus de l'herpès et de la vaccine (MAILLET ; 2006).

#### **IV.3.2. Virus à ARN :**

On distingue

- \* Les virus à ARN positif : ceux sont des virus dont l'ARN peut être directement traduit, exactement comme l'ARN messager.

\*Les virus à ARN négatif : ils ne sont pas traduits directement : une transcriptase reverse apportée par le virus synthétise, à partir de l'ARN viral, un ADN qui est incorporé dans l'ADN de la cellule hôte puis traduit en ARNm (MAILLET ; 2006).

On distingue trois sous-groupes selon des critères de pathogénie et phylogénie : les oncovirus associés à des cancers ou des leucémies ; les lentivirus responsable de pathologies d'évolution lente et toujours fatale ; les spumavirus dont on ignore l'implication pathologique (HERVE et al ; 2009).

#### IV.4. Le cycle viral

Le cycle de multiplication virale dépend de deux facteurs en relation avec la cellule infectée :

- La sensibilité d'une cellule pour un virus définit sa capacité à pouvoir être infecté par un virus donné. Elle dépend de la nature de la cellule et de l'espèce animale. L'ensemble des cellules sensibles à un virus définit son spectre d'hôtes.
- La permissivité d'une cellule se définit par le fait qu'elle permet un cycle viral productif. Cependant, même si elles sont sensibles, les cellules peuvent ne pas être permissives (MAMMETTE ; 2002).

#### IV.5. Les étapes de cycle viral

Le cycle de multiplication virale comprend plusieurs étapes successives (Cf. figure 8)

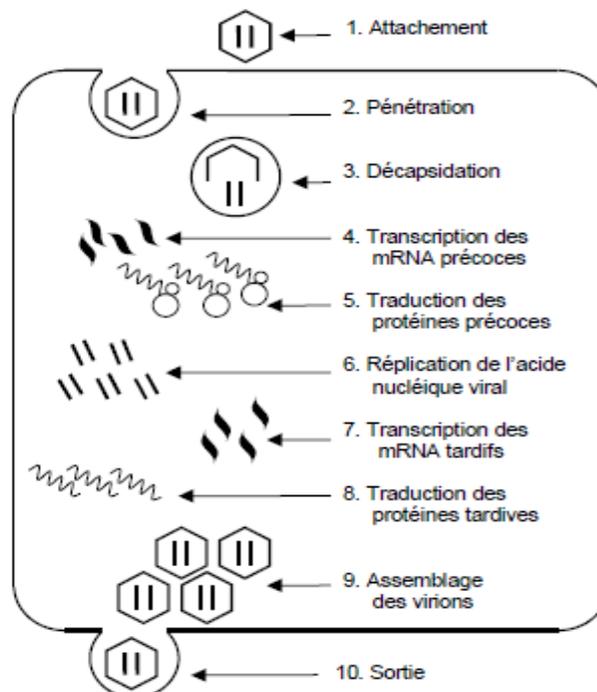


Figure 8 : Cycle de multiplication virale (THIRY).

#### IV.5.1. Attachement :

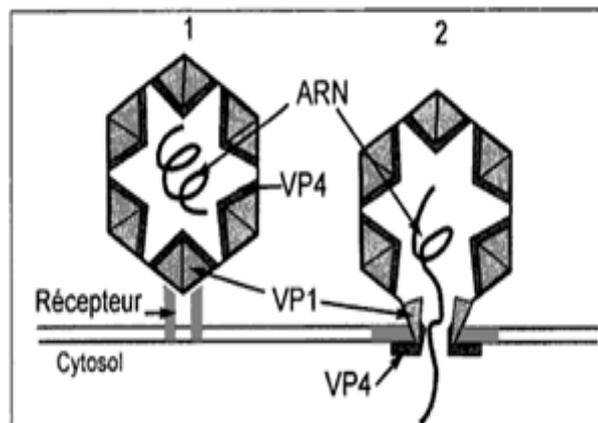
Les virus doivent se fixer à la cellule avant de débiter une infection. Cette fixation résulte de l'interaction de la protéine d'attachement du virus (antirécepteur) et d'une protéine ou glycoprotéine cellulaire (récepteur) (MAMMETTE ; 2002).

#### IV.5.2. Pénétration intracellulaire :

Rapidement après leur attachement, les virus traversent la membrane cytoplasmique pour entrer dans la cellule. Ils nécessitent les interactions des différentes protéines virales qui entraînent des modifications de conformation.

On distingue trois mécanismes (MAMMETTE .2002) :

- La fusion des membranes virale et cellulaire,
- L'endocytose après liaison du virus aux récepteurs cellulaires,
- Le transfert du matériel viral à travers la membrane cellulaire.



**Figure 9 :** transfert du matériel génétique viral à travers la membrane cellulaire (MAMMETTE ; 2002).

#### IV.5.3. Décapsidation

Le génome viral doit être, au moins partiellement, libéré de sa capsid pour pouvoir être transcrit et dupliqué. Cette étape de décapsidation commence parfois très tôt dans le cycle, dès la fixation du virus sur son ou ses récepteurs. Les modifications de conformation des protéines virales peuvent entraîner une déstabilisation de la capsid (MAMMETTE ; 2002). Elle a pour but la libération de l'acide nucléique viral pour pouvoir être transcrit et dupliqué.

#### IV.5.4. Expression et réplication du génome viral

La multiplication des virus s'effectue par duplication du matériel génétique «réplication». Par ailleurs, les informations contenues dans le génome viral sont traduites directement ou après une étape de transcription en protéines. Celles-ci peuvent être des protéines non structurales (enzymes spécifiques, protéines régulatrices ou facteurs interférant avec le métabolisme cellulaire); elles sont aussi des protéines structurales utilisées pour la construction de nouvelles particules virales et cette différence d'expression est expliquée par la phase précoce et tardive (Cf. figure 10); (A.MAMMETTE .2002).

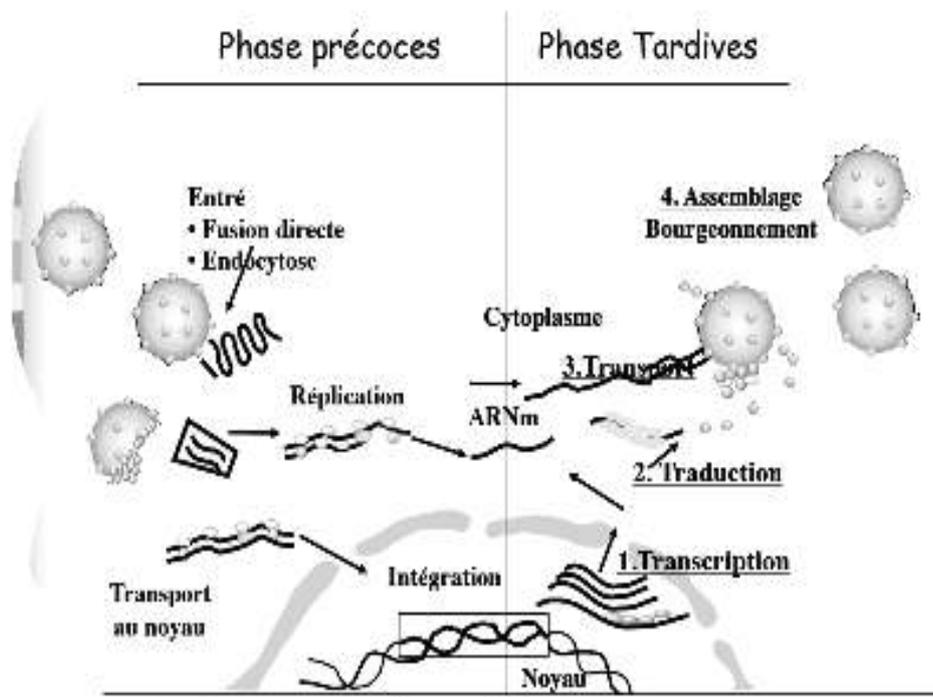


Figure 10 : Phase précoces et tardives [27]

#### IV.5.5. Assemblage, maturation et libération des virus

Cette étape comprend l'assemblage des protéines de structure en capsid, l'incorporation du génome dans la capsid, la maturation des protéines par clivage protéolytique ou modification de conformation (HERVE et al ; 2009).

#### IV.5.6. Conséquences de l'infection virale

Les conséquences de l'infection virale sont variables, elle peut être :

**A. Une infection productive :** Qui conduit à la production de nouveaux virions. Ce type d'infection peut être soit :

- **A1. Lytique :** C'est-à-dire conduisant à la lyse de la cellule infectée et donc à sa mort. La multiplication des virus capables de provoquer ce type d'infection se traduit en culture cellulaire par l'apparition de lésions morphologiques caractéristiques désignées par effet cytopathique ou ECP. L'effet cytopathique est caractéristique d'un virus donné et est ainsi à la base du diagnostic virologique (MAMMETTE ; 2002).
- **A2. Non lytique :** C'est le cas de certains virus qui sont libérés de la cellule hôte par bourgeonnement cytoplasmique

**B. Une infection abortive :** En effet, même si elles sont sensibles, les cellules infectées peuvent ne pas être permissives, ne permettant qu'une faible production de virions ou la production de virions déficients (MAMMETTE ; 2002).

**C. Une infection persistante :** Due à une persistance du virus à l'intérieur de la cellule qu'il infecte. On en distingue deux types :

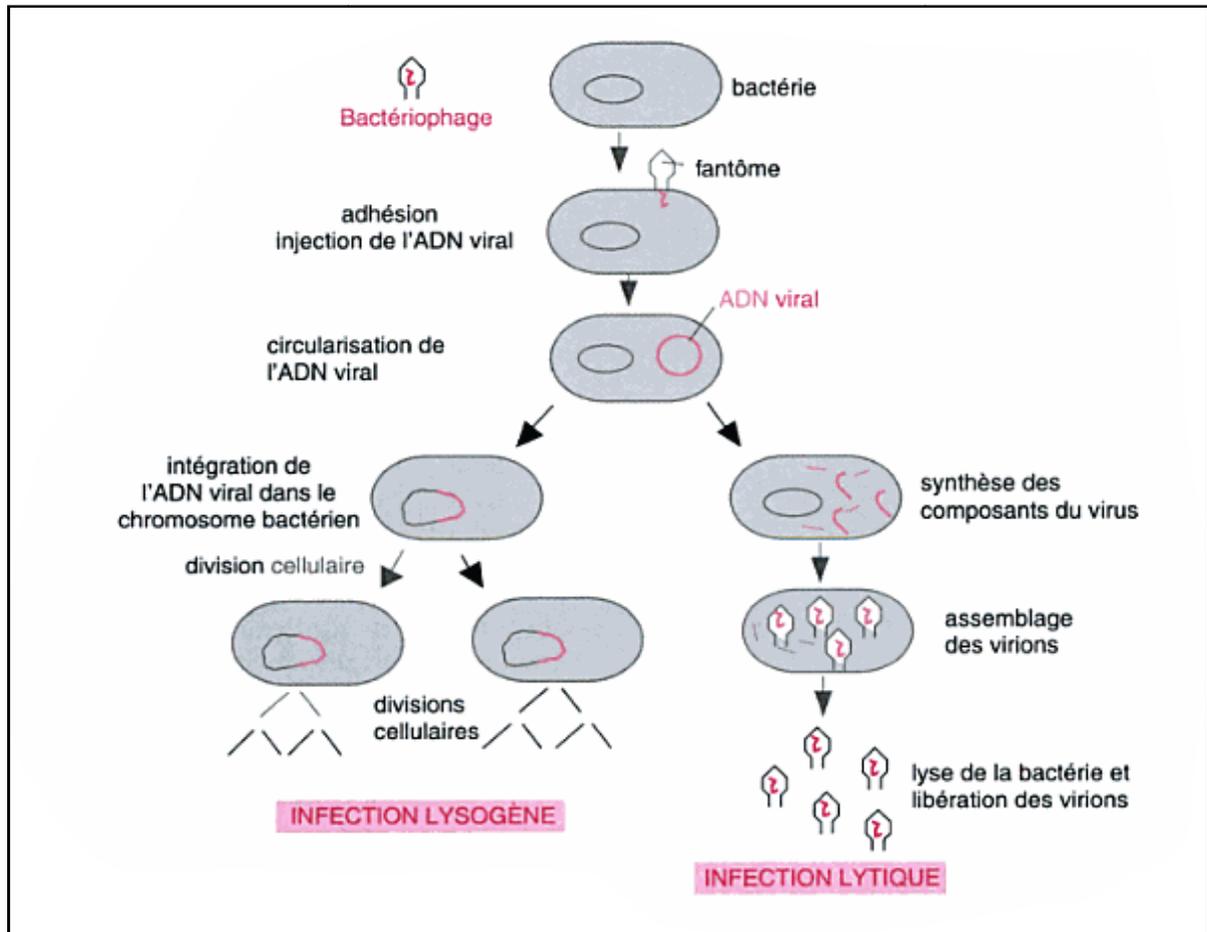
- **C1. Infection latente :** Le virus est présent à l'intérieur de la cellule mais sans se multiplier. Il y est alors présent à l'état de génome, soit intégré aux chromosomes cellulaires et on parle de provirus soit libre extra-chromosomique ou épisome. Au cours de ce type d'infection, le virus peut se réactiver et reprendre un cycle viral complet (MAMMETTE ; 2002).
- **C2. Infection chronique productive :** Le virus s'exprime avec production virale continue d'où destruction progressive des cellules cibles (MAMMETTE ; 2002).

#### **IV.6. Les modes d'infection viraux**

Le bactériophage peut être pris comme exemple pour comprendre les étapes du cycle de développement des virus. Deux modes d'infection sont possibles (ROBERT et al ; 2004).

**IV.6.1. L'infection lytique :** C'est le cas du phage T4. Le cycle lytique conduit à la mort des cellules ; les principales étapes de ce cycle sont résumées ci-dessous (Cf. figure 12) (ROBERT ; 2004).

**IV.6.2. L'infection lysogène :** C'est le cas du phage lambda. Il arrive plus rarement que l'ADN viral s'intègre au chromosome circulaire de l'hôte. Cela est rendu possible par des enzymes capables de couper l'ADN en des sites précis et d'autres capables de lier les extrémités libres. L'ADN viral intégré, appelé un provirus, constitue à ce stade une forme d'infection masquée, latente (ROBERT ; 2004).



**Figure 11 :** L'infection lytique et l'infection lysogène (ROBERT ; 2004).

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

## **CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES**

La présente étude a porté sur un échantillon d'élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida (Algérie) durant la période allant d'avril 2011 à janvier 2013. Les analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche ECOQUAPA de la faculté des sciences agro-vétérinaires et biologiques de l'université SAAD DAHLEB-Blida et au laboratoire d'hématologie du Centre Pierre et Marie Curie (hôpital Mustapha BACHA, Alger).

### **I.1. Matériel**

#### **I.1.1. Matériel biologique**

Notre travail a porté sur :

- 44 échantillons de lait de tank collectés au niveau des élevages de la wilaya de Blida
- 15 échantillons de lait individuel prélevés au niveau de deux exploitations laitières de la même wilaya pour la recherche de :
  - L'effet cytopathique.
  - La relation entre le rang de lactation et l'aspect cellulaire.

#### **I.1.2. Matériel non biologique**

**A. Petits matériels** (Cf. annexe 1)

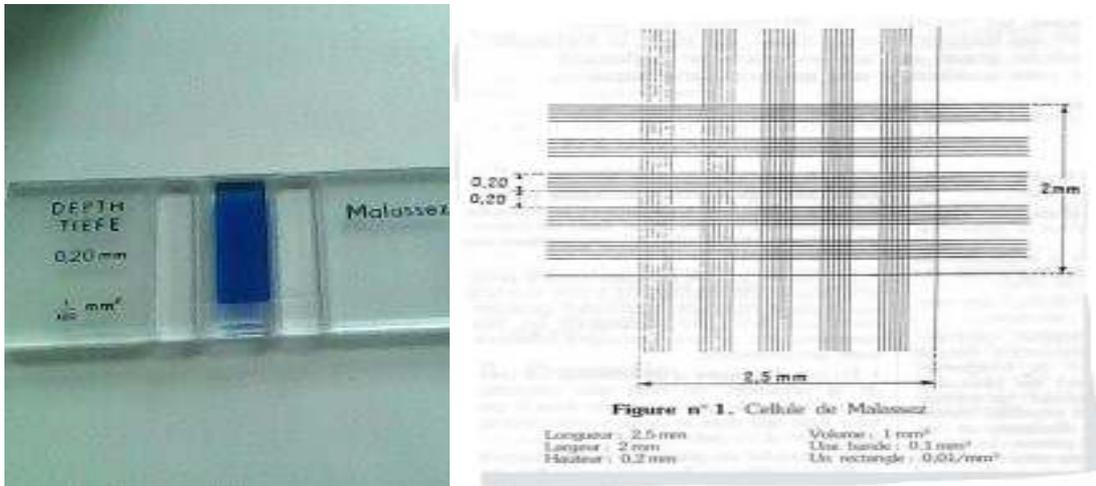
#### **B. Equipements**

Pour les différentes étapes de notre expérimentation, nous avons utilisé les équipements suivants :

- Microscope optique :
- Cellule de Malassez :

La cellule de Malassez est un hématimètre qui permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution. Il s'agit d'une cellule dont le volume mesure  $1 \text{ mm}^3$ .

Elle comporte 5 bandes horizontales de 4 lignes chacune et 5 bandes verticales de 5 lignes chacune (Cf. figure 13).



**Figure 13 :** Cellule de Malassez (photo originale)

- **Centrifugeuse**

Nous avons utilisé une centrifugeuse réfrigérée de marque nüve, modèle NF 800 R (Cf. figure 14).



**Figure 14 :** Centrifugeuse réfrigérée (photo originale)

- **Cytocentrifugeuse**

Nous avons utilisé une cytocentrifugeuse de marque Heraeus, type SEPATECH (Cf. figure 15).



**Figure 15 :** Cyto-centrifugeuse (photo originale)

- **Automate de coloration**

Nous avons utilisé un automate de marque BAYER pour la coloration des frottis cellulaires.

## **I.2. Méthodes**

Nous avons adopté une démarche expérimentale qui repose sur :

- L'évaluation du statut sanitaire du troupeau par comptage cellulaire (méthode microscopique).
- La caractérisation de l'effet cytopathique par observation des frottis au microscope optique après réalisation des frottis cellulaires par cytocentrifugation et coloration des frottis par MGG (May Grunwald Giemsa).

### **I.2.1. Comptage cellulaire**

Parmi les méthodes de diagnostic de l'état sanitaire de la mamelle, la numération des cellules somatiques du lait, universellement utilisée pour l'évaluation de la qualité sanitaire du lait, reconnue par tous les partenaires de la filière lait et inscrite dans les dispositifs réglementaires nationaux et internationaux (SCHALM *et al.*, 1968; Institut de l'élevage, 2008) revêt une importance à plusieurs titres :

- Elle est considérée comme un indicateur de santé du pis de par sa valeur qui constitue un élément précieux pour la détection des mammites, surtout celles qui passent inaperçues pour l'éleveur.
- Elle permet l'évaluation des pertes économiques en lait.
- Elle sert comme indice pour la sélection et l'amélioration génétique.

#### **A. Préparation des dilutions et coloration**

A partir de l'échantillon et à l'aide d'une pipette pasteur, prendre deux gouttes de lait et 18 gouttes d'eau physiologique pour une dilution au 1/10. Rajouter une goutte de bleu de méthylène (centrifugé et filtré pour la coloration). Mélanger soigneusement et laisser agir pendant quelques secondes. En cas où la concentration cellulaire est trop élevée préparer une deuxième dilution au 1/100. (Cf. figure 16).

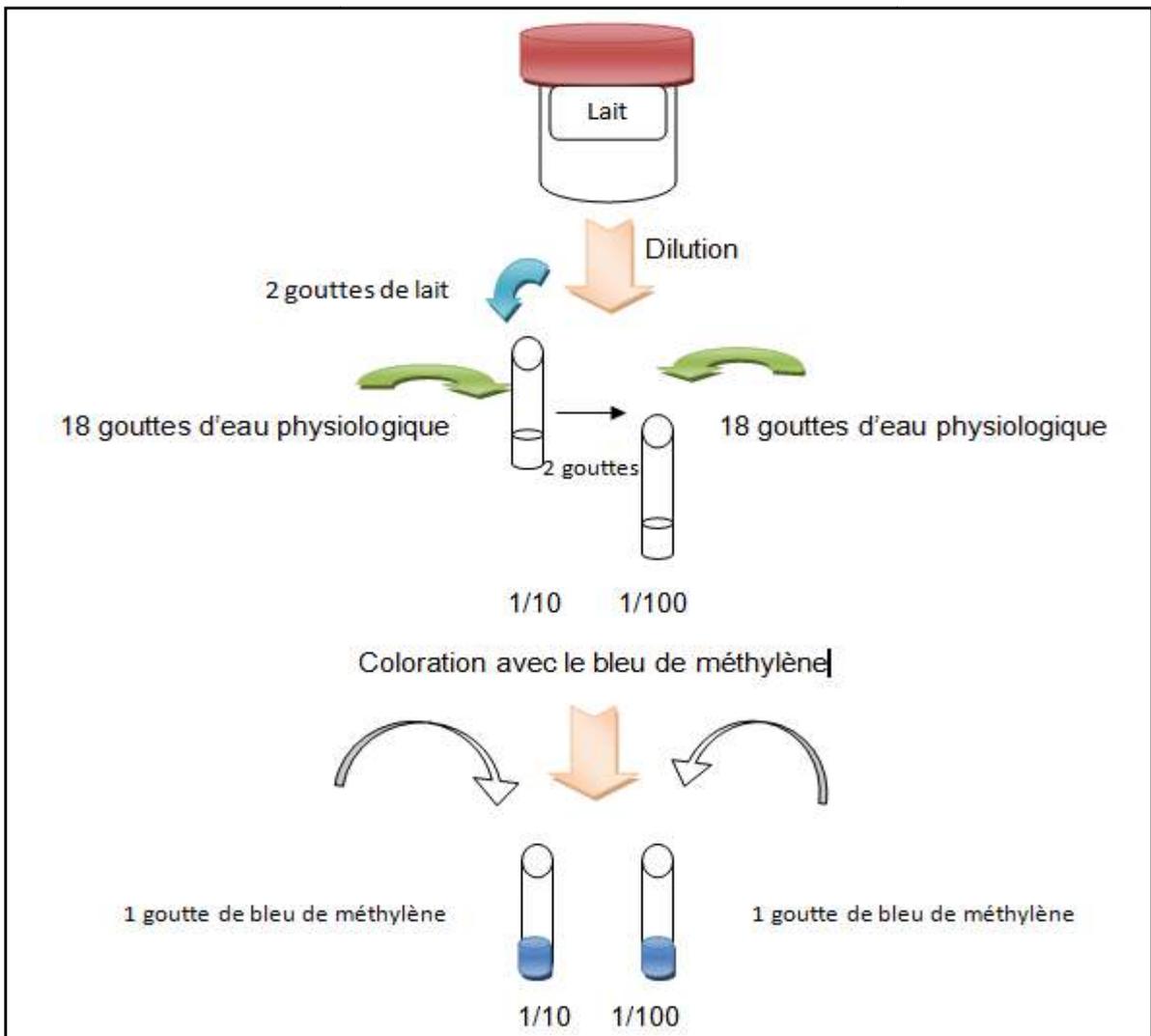
#### **B. Remplissage de la lame de Malassez**

- Humecter les berges de la cellule avec un peu de salive.
- Glisser la lamelle sur ces berges en assurant son adhérence par pression des deux pouces.

- Homogénéiser le prélèvement à l'aide d'une pipette pasteur, puis prélever une petite quantité.
- Amener l'extrémité de la pipette inclinée au niveau de l'espace situé entre la plate-forme et la lamelle planée : l'hématimètre se remplit immédiatement par capillarité. (Il ne doit pas exister de bulle d'air) (Cf. photo 2, figure 17).
- Laisser sédimenter horizontalement pendant 5 à 10 minutes sur un plan bien horizontal.

### **C. Comptage sous microscope**

- Après repérage des limites de la cellule à l'objectif 10, les éléments sont comptés à l'objectif 40 (Cf. photo 3, figure 17).
- Compter une bande, voire la cellule entière selon la quantité de cellules trouvées.
- Pour les éléments situés entre deux bandes, ne compter que ceux qui sont à cheval sur deux lisières, en général celle du haut et celle de droite
- Multiplier le nombre de cellules comptées par la dilution et le coefficient de la cellule.



**Figure 16 :** Préparation des dilutions et coloration avec le bleu de méthylène



**Figure 17 :** Schéma démonstratif de la méthode microscopique (photos originales)

### \* Exemple de comptage

On compte les cellules dans une bande horizontale =  $1/10 \text{ mm}^3$ .

Par exemple dans le cas de la dilution  $1/10$  : On compte 1 bande =  $1/10 \text{ mm}^3$ . Il y a donc  $n \times 10$  cellules/ $\text{mm}^3$

Le résultat est donc

$$n \times 10 \times 10 = n \times 100 \text{ cellule}/\text{mm}^3.$$

$$N = n \times 1000 = N \text{ cellule}/\text{ml}.$$

$n$  = nombre de cellule compté dans une bande

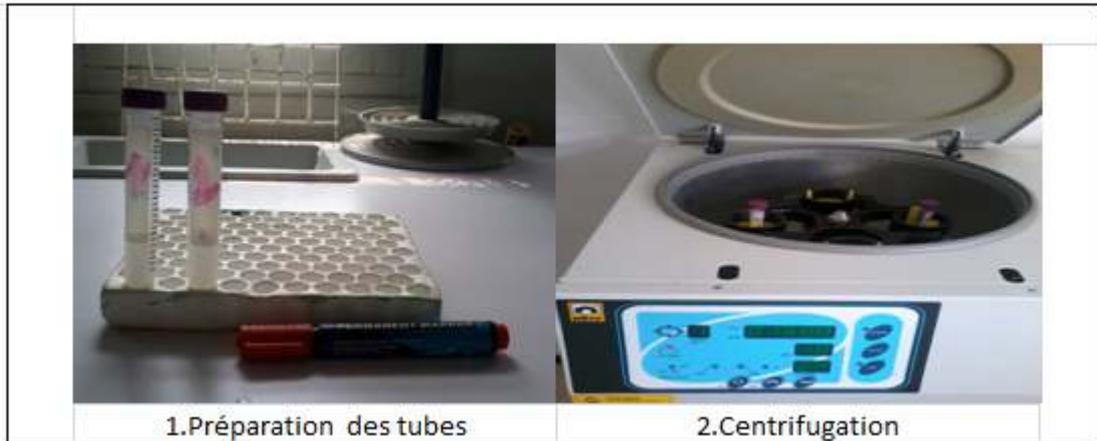
$N$  = nombre total de cellule dans un ml de lait

### I.2.2. Caractérisation de l'effet cytopathique

Les préparations cellulaires sont réalisées sur la base des numérations cellulaires obtenues selon les étapes suivantes :

#### A. Préparation du culot cellulaire pour cyto centrifugation

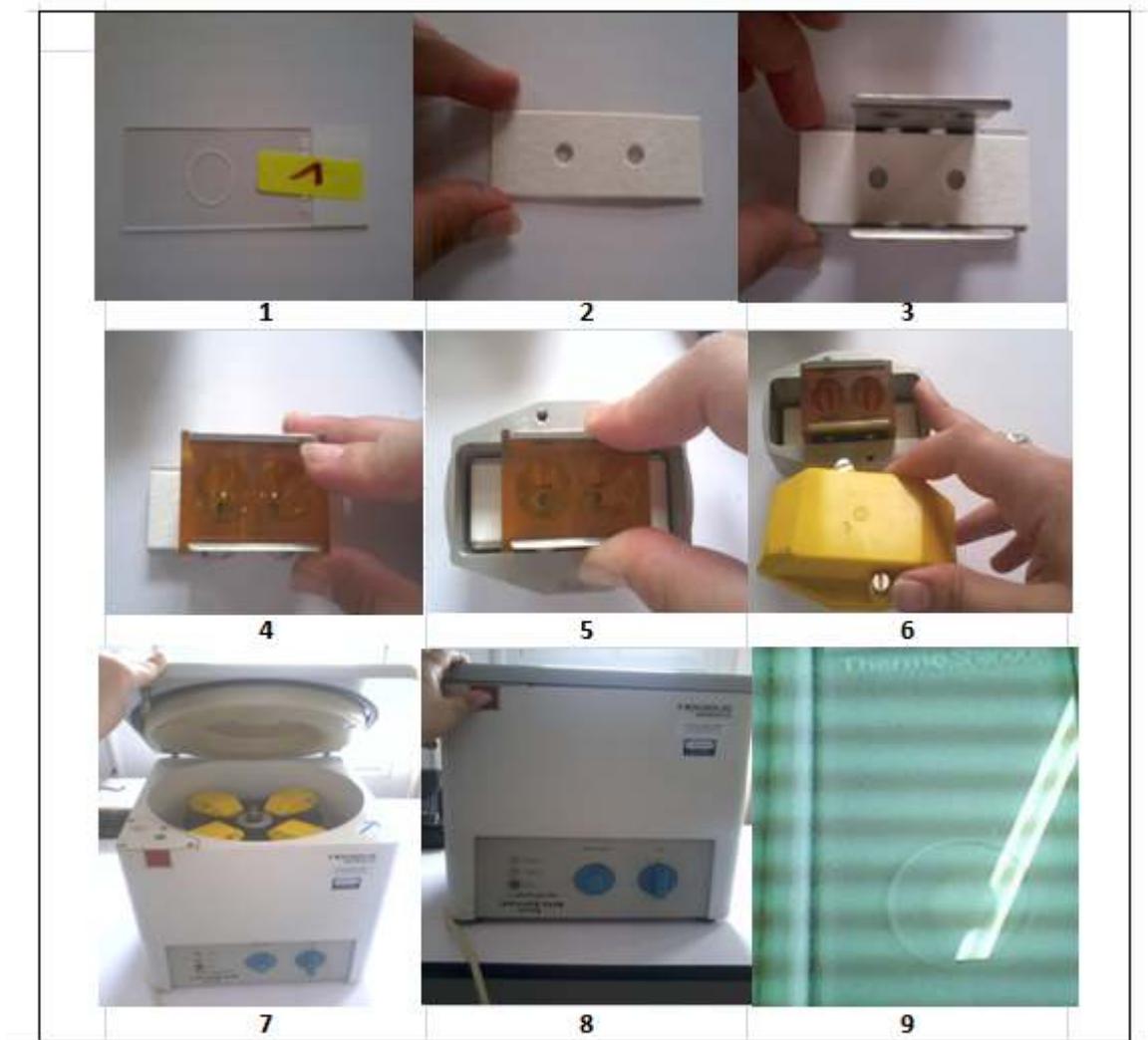
- A partir du prélèvement de lait, prendre un volume de lait correspondant à  $2 \times 10^5$  cellules.
- Mettre cette quantité dans un tube conique rajouter l'eau physiologique (Cf. photo 1, figure 18)
- Centrifuger à  $4^\circ\text{C}$  pendant 10mn (Cf. photo 2, figure 18).
- Refaire l'opération jusqu'à obtention d'un culot transparent



**Figure 18** : Schéma démonstratif des étapes de lavage cellulaire (photos originales)

## B. Réalisation des préparations cellulaires

- Préparation du dispositif de centrifugation (cytofunelles) :
  - Identifier les lames sur la face dorsale (Cf. photo 1, figure 19).
  - Ajouter les filtres sur les lames de façon à ce que le trou sur le filtre soit exactement sur le cercle de la lame (Cf. photo 2, figure 19).
  - Mettre les lames sur les supports métalliques (Cf. photo 3, figure 19)
  - Mettre les cytofunelles en verre sur les lames et les filtres, positionner les trous (filtre et cytofunelles) sur le cercle de la lame (Cf. photo 4, figure 19).
  - Mettre le tout dans les pots à centrifuger (Cf. photo 5, figure 19).
- Dépôt des échantillons :
  - Déposer les échantillons à l'intérieur des cytofunelles.
  - Fermer les pots à centrifuger avec leurs couvercles à l'aide d'un tournevis (Cf. photo 6, figure 19)
  - Positionner les pots métalliques dans la cytocentrifugeuse par ordre de numérotation et fermer le dispositif (Cf. photo 7, figure 19).
  - Centrifuger à 500 rpm pendant 5mn (Cf. photo 8, figure 19).
  - Récupérer les préparations (frottis cellulaires) et laisser sécher à l'air (Cf. photo 9, figure 19).



**Figure 19** : schéma démonstratif des étapes de réalisation des préparations cellulaires (frottis cellulaires, photos originales)

### C. Coloration des frottis

Les préparations ainsi réalisées sont colorées au moyen de l'automate sur le principe suivant :

#### \*Principe de la coloration MGG

Elle se base sur deux colorants à savoir :

- **Le May-Grünwald**, neutre, contenant un colorant acide, l'éosine , et un colorant basique, le bleu de méthylène.
- **Le Giemsa**, neutre, contenant lui aussi de l'éosine , et un colorant basique, l'azur de méthylène.

Ces deux colorants sont solubilisés dans l'alcool méthylique et sont de ce fait inactifs : c'est le contact de l'eau qui leur donne un pouvoir colorant. Les sels se dissocient alors en colorant acide (l'éosine) et basique (azur et bleu de méthylène).

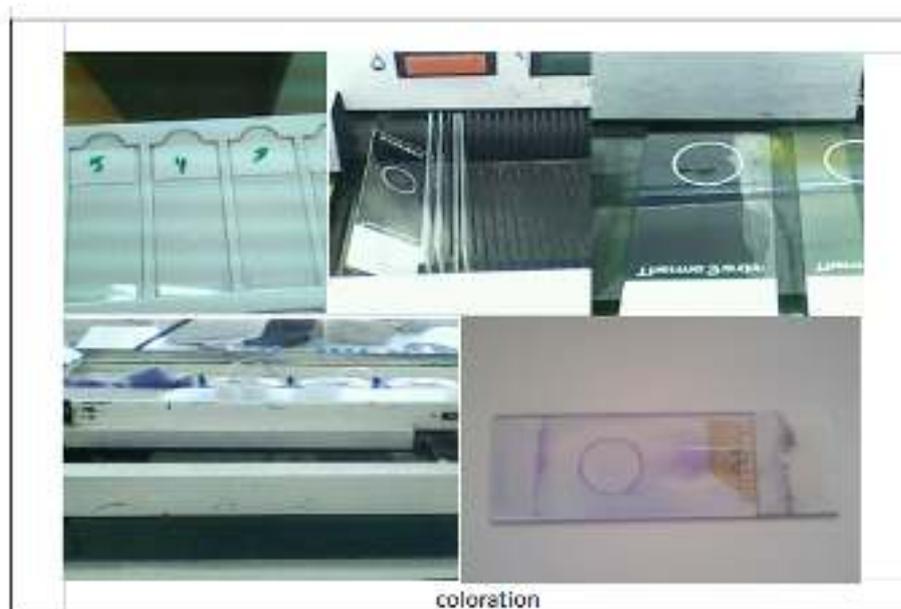
-Les éléments cellulaires acides, seront colorés sélectivement par les colorants basiques. Ces éléments sont qualifiés de basophiles (ADN, cytoplasme des lymphocytes)

-Les éléments cellulaires basiques, seront colorés sélectivement par les colorants acides. Ces éléments sont qualifiés d'acidophiles ou d'éosinophiles (cytoplasme des hématies)

-Les éléments neutrophiles sont colorés à la fois par les colorants acides et basiques.

La coloration au MGG repose sur plusieurs étapes, à savoir (Cf. figure 20) :

- Fixation.
- Coloration May-Grünwald
- Rinçage la lame.
- Coloration au Giemsa.
- Rinçage à l'eau neutre.
- Séchage.



**Figure 20** : schéma démonstratif des étapes de la coloration au MGG (photos originales).

#### **D. Lecture**

L'observation des préparations ainsi colorées est réalisée sur microscope photonique aux grossissements x10, x40 et x100.

## CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

### II.1. Évaluation du statut sanitaire du troupeau :

Les résultats de la numération cellulaire des laits d'élevages analysés sont rapportés dans le tableau I.

**Tableau I :** Résultats de la numération cellulaire des laits d'élevages analysés.

Date de prélèvement	Numéro d'exploitation	Effectif global (n vaches)	NCT (cellules/ml)
1/12/2011	1	06	19 x 10 <sup>5</sup>
	2	60	9 x 10 <sup>5</sup>
	3	42	12 x 10 <sup>5</sup>
	4	6	8 x 10 <sup>5</sup>
4/12/2011	5	5	<b>3 x 10<sup>5</sup></b>
	6	14	7 x 10 <sup>5</sup>
	7	28	9 x 10 <sup>5</sup>
8/12/2011	8	5	8 x 10 <sup>5</sup>
	9	12	10 x 10 <sup>5</sup>
12/12/2011	10	10	13 x 10 <sup>5</sup>
	11	9	11 x 10 <sup>5</sup>
	12	7	17 x 10 <sup>5</sup>
16/12/2011	13	10	10 x 10 <sup>5</sup>
	14	11	8 x 10 <sup>5</sup>
	15	9	4 x 10 <sup>5</sup>
	16	7	<b>29 x 10<sup>5</sup></b>
11/1/2012	17	12	12 x 10 <sup>5</sup>
	18	15	10 x 10 <sup>5</sup>
	19	9	14 x 10 <sup>5</sup>
20/2/2012	20	11	6 x 10 <sup>5</sup>
	21	13	6 x 10 <sup>5</sup>
	22	6	18 x 10 <sup>5</sup>
	23	7	6 x 10 <sup>5</sup>
	24	7	12 x 10 <sup>5</sup>
	25	23	16 x 10 <sup>5</sup>
	26	5	12 x 10 <sup>5</sup>
	27	50	14 x 10 <sup>5</sup>
	28	33	11 x 10 <sup>5</sup>
	29	7	9 x 10 <sup>5</sup>
	30	6	6 x 10 <sup>5</sup>
	31	10	12 x 10 <sup>5</sup>
	32	14	4 x 10 <sup>5</sup>
	33	9	12 x 10 <sup>5</sup>
34	54	16 x 10 <sup>5</sup>	
7/03/2012	35	15	12 x 10 <sup>5</sup>
	36	47	7 x 10 <sup>5</sup>
	37	31	10 x 10 <sup>5</sup>
	38	63	23 x 10 <sup>5</sup>
	39	22	11 x 10 <sup>5</sup>
	40	14	21 x 10 <sup>5</sup>
	41	19	17 x 10 <sup>5</sup>
42	17	9 x 10 <sup>5</sup>	
43	18	18 x 10 <sup>5</sup>	
44	18	23 x 10 <sup>5</sup>	
Moyenne			12.04 x 10 <sup>5</sup>

Il en ressort que les NCT des élevages varient entre  $3 \times 10^5$  et  $29 \times 10^5$  cellules / ml avec une valeur moyenne de  $12,04 \times 10^5$  cellules/ml.

Selon la norme de la FIL, la numération cellulaire du lait d'élevage doit être  $\leq 400\ 000$  cellules / ml. Le traitement des résultats conformément à cette réglementation est rapporté dans le tableau II.

**Tableau II** : Classement des échantillons selon la norme de la FIL.

NCT	Nombre d'élevages	Pourcentage
$\leq 400\ 000$ cellules / ml	03	6,82
$> 400\ 000$ cellules / ml	41	93,18
<b>Total</b>	44	100

Il en ressort que :

- 03 élevages seulement présentent une numération cellulaire dans la norme, soit un taux de 6,82%.
- 41 élevages présentent une numération cellulaire supérieure à la norme, soit un taux de 93,18%.

Les travaux de GHARBI (2002) et KEBBAL (2010), rapportent des taux respectifs de 86% et 89,13% d'élevages de la région de la Mitidja avec une concentration cellulaire supérieure à 400 000 cellules/ml. De nombreux facteurs peuvent influencer la numération cellulaire du lait d'élevage. Quoique la numération cellulaire varie en fonction de l'âge, du rang de lactation et du niveau de production, il est reconnu et établi que la principale cause de variation demeure le statut infectieux de la mamelle.

Sur la base des résultats des numérations cellulaires obtenues, le statut sanitaire du pis dans nos élevages, déterminé après classement des élevages en fonction des tranches cellulaires comme rapporté par SERIEYS (1985c), HARMOUN (1994), LE ROUX (1999), BAILLARGEON (2005) et WATTIAUX (2005) est rapporté dans le tableau III.

**Tableau III:** Appréciation du statut sanitaire des élevages par classement en fonction des tranches de NCT.

Tranches cellulaires (Cellules/ml)	Quartier infectés (%)	Elevages (n=44)	Statut sanitaire
$< 2 \times 10^5$	06	00	Bon
$2-5 \times 10^5$	16	3	Satisfaisant
$5-10 \times 10^5$	32	17	Préoccupant
$10-15 \times 10^5$	48	13	Alarmant
$> 15 \times 10^5$	>48	11	

L'interprétation des résultats montre qu'aucun élevage ne présente de bon statut sanitaire. Sur l'ensemble des élevages testés, seuls trois élevages (3, soit 6,8%) présentent un statut sanitaire satisfaisant. Plus du tiers des élevages (17, soit 38,6%) présentent un statut sanitaire préoccupant, alors que plus de la moitié des élevages (24, soit 54,5%) présentent un statut sanitaire alarmant. La situation observée dans la présente étude est confortée par les résultats des études antérieures sur les élevages de la même région [BEROUAL, KEBBAL et GHARBI] qui montrent que les mammites cliniques et subcliniques représentent la principale pathologie.

## II.2. Recherche de l'effet cytopathique:

La caractérisation de l'infection virale passe par la mise en évidence de l'effet cytopathique dans les cellules somatiques du lait. Compte tenu que le lait d'élevage est un lait de mélange (tank) de toute les vaches en production (en lactation) et que la numération cellulaire du lait d'élevage ne permet d'estimer que le nombre de quartiers infectés ; nous avons été contraints de rechercher l'effet cytopathique à l'échelle individuelle (lait de vache) puis de passer à l'échelle élevage (troupeau).

### II.2.1. A l'échelle individuelle :

La recherche de l'effet cytopathique à l'échelle individuelle a porté sur un groupe de quinze (15) vaches appartenant à deux exploitations laitières de la wilaya de Blida. Les vaches ont d'abord été dépistées pour les mammites (statut sanitaire : saine ou malade) au moyen du California Mastitis Test (CMT), puis un prélèvement de lait a été systématiquement

réalisé pour la confirmation du statut sanitaire par la numération cellulaire et la recherche de l'effet cytopathique.

#### A. Evaluation du statut sanitaire des vaches :

Le dépistage des vaches à l'exploitation au moyen du CMT a permis de les classer en trois lots selon l'interprétation de Berthelot et al (1987), à savoir :

- Le lot des vaches saines ayant présenté un test CMT –, correspondant à une numération CCS < 500 x 10<sup>3</sup> cellules / ml.
- Le lot des vaches atteintes de mammite subclinique ayant présenté un test CMT +/+, correspondant à une numération comprise dans l'intervalle 5 x 10<sup>5</sup> < CCS < 500 x 10<sup>5</sup> cellules / ml.
- Le lot des vaches atteintes de mammite clinique ayant présenté un test CMT +++, correspondant à une numération CCS ≥ 500 x 10<sup>5</sup> cellules / ml.

Les résultats des numérations cellulaires obtenues à partir des 15 laits de vaches analysés sont rapportés dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Résultats des numérations cellulaires obtenues à partir des 15 laits de vaches.

Statut sanitaire au CMT		N°identification vache	CCI (cellules/ml)	CCI moyenne par rang de lactation (cellules/ml)	CCI moyenne (cellules/ml)
Saines (CCC < 500 10 <sup>3</sup> )	Primipare	64319	1 x 10 <sup>5</sup>	1,33 x 10 <sup>5</sup>	2,77 x 10 <sup>5</sup>
		72400	2 x 10 <sup>5</sup>		
		08018	1 x 10 <sup>5</sup>		
	2 <sup>ème</sup> rang	07003	3 x 10 <sup>5</sup>	2,66 x 10 <sup>5</sup>	
		94674	2 x 10 <sup>5</sup>		
		0693	3 x 10 <sup>5</sup>		
	4 <sup>ème</sup> rang	05034	4 x 10 <sup>5</sup>	4,33 x 10 <sup>5</sup>	
		NI	4 x 10 <sup>5</sup>		
		1304	5 x 10 <sup>5</sup>		
Malades	Mammite subclinique (5x10 <sup>5</sup> < CCS < 50x10 <sup>5</sup> )	85661	8 x 10 <sup>5</sup>	17,50 x 10 <sup>5</sup>	
		NI	10 x 10 <sup>5</sup>		
		00135	25 x 10 <sup>5</sup>		
	Mammite clinique (CCS > 500x10 <sup>5</sup> )	NI	61 x 10 <sup>5</sup>	61,66 x 10 <sup>5</sup>	
		NI	84 x 10 <sup>5</sup>		
		NI	40 x 10 <sup>5</sup>		

CCI : Concentration cellulaire individuelle, NI : non identifiée

Les concentrations cellulaires individuelles moyennes pour :

- les vaches saines primipares, de deuxième et quatrième rang de lactation sont respectivement de  $1,33 \times 10^5$  ;  $2,66 \times 10^5$  et  $4,33 \times 10^5$  cellules / ml avec une moyenne de  $2,77 \times 10^5$  cellules / ml ;
- les vaches atteintes de mammites subcliniques et cliniques, dépistées au CMT, sont respectivement de  $17,50 \times 10^5$  cellules / ml et  $61,66 \times 10^5$  cellules / ml.

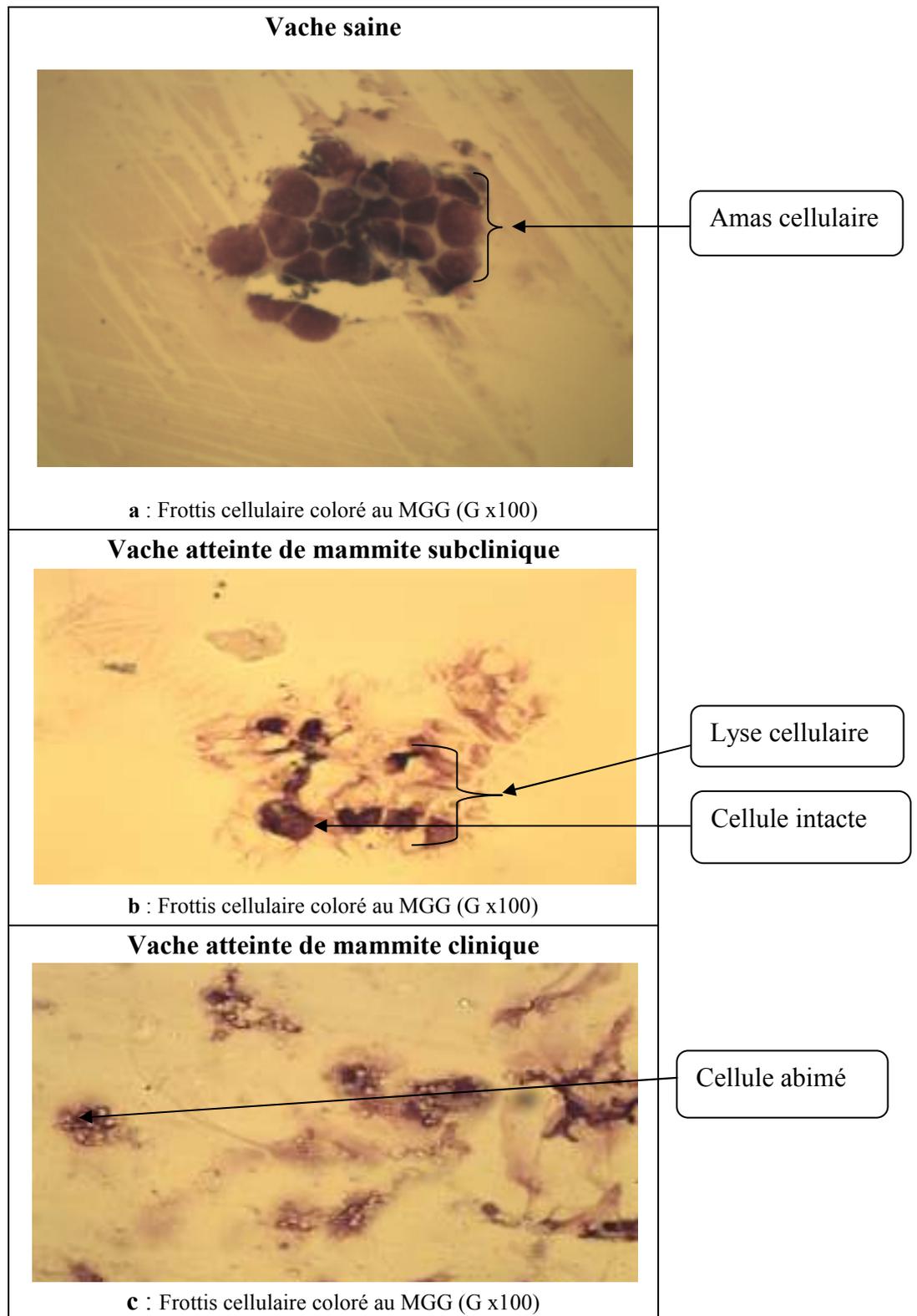
Les valeurs obtenues confirment bien les résultats obtenus au test CMT.

L'augmentation des numérations cellulaires caractérisée chez les vaches atteintes de mammites subcliniques et cliniques semble être directement proportionnelle avec la gravité de l'infection et pourrait s'expliquer par la réponse immunitaire vis-à-vis des agents pathogènes. En effet, les cellules somatiques présentes dans le lait sont principalement constituées de globules blancs, lesquels sont produits par la vache pour éliminer les bactéries présentes dans le pis et responsables de la mammite, ainsi que pour régénérer les tissus endommagés (J. RODENBURG ET al, 1996).

## **B. Recherche de l'effet cytopathique :**

Les préparations cellulaires issues de lait de vaches saines et malades ont été observée au microscopique photonique aux grossissements (x10, x40 et x100) pour la mise en évidence de l'effet cytopathique.

Nous présenterons ci-dessous (figure 21) l'aspect cellulaire d'un échantillon des préparations issues de lait de vache saine, de vache atteinte de mammite subclinique et de mammite clinique.



**Figure n°21** : Préparations cellulaires issues de laits provenant de vaches saines et de vaches atteintes de mammites (photos originales)

L'observation des frottis cellulaires montre :

- la présence d'un amas cellulaire bien organisé où les cellules somatiques apparaissent intactes aux contours bien délimités sur les préparations issues de lait provenant de vaches saines (Cf. figure 21, a).
- la présence d'un amas cellulaire avec deux types de cellules sur les préparations issues de lait provenant de vaches atteintes de mammite subclinique : (Cf. figure 21, b) :
  - Le premier, représentant des cellules somatiques intactes présentant des contours plus ou moins bien délimités.
  - Le second, représentant des cellules apparaissant avec un cytoplasme clair comme vidé de ces organites (cellules lysées).
- L'absence totale d'intégrité cellulaire sur les préparations issues de lait provenant de vaches atteintes de mammite clinique (Cf. figure 21, c) :

Sur la base des observations des préparations cellulaires rapportées ci dessus, nous pouvons dire que :

- l'aspect cellulaire normal des laits, provenant de vaches saines, permet d'écartier les artefacts dus aux mauvaises manipulations, à savoir l'effet de la température, de la vitesse de centrifugation et du pH des solutions utilisées.
- l'aspect cellulaire anormal des laits, provenant de vaches malades, caractérisé par les modifications morphologiques (cytoplasme clair, absence totale d'intégrité cellulaire et lyse cellulaire) correspondant à un effet cytopathique pouvant s'expliquer par la multiplication virale dans la glande mammaire. Selon Delmas (1997) et Le Gall (2001), l'effet des cellules qui caractérise l'effet cytopathique est produit lors de multiplication virale intracellulaire.

La différence observée dans l'aspect cellulaire des laits (modifications morphologiques vs absence totale d'intégrité cellulaire), en relation avec le stade de l'infection (mammite subclinique vs mammite clinique) ; est aussi en étroite relation avec les concentrations cellulaires individuelles obtenues.

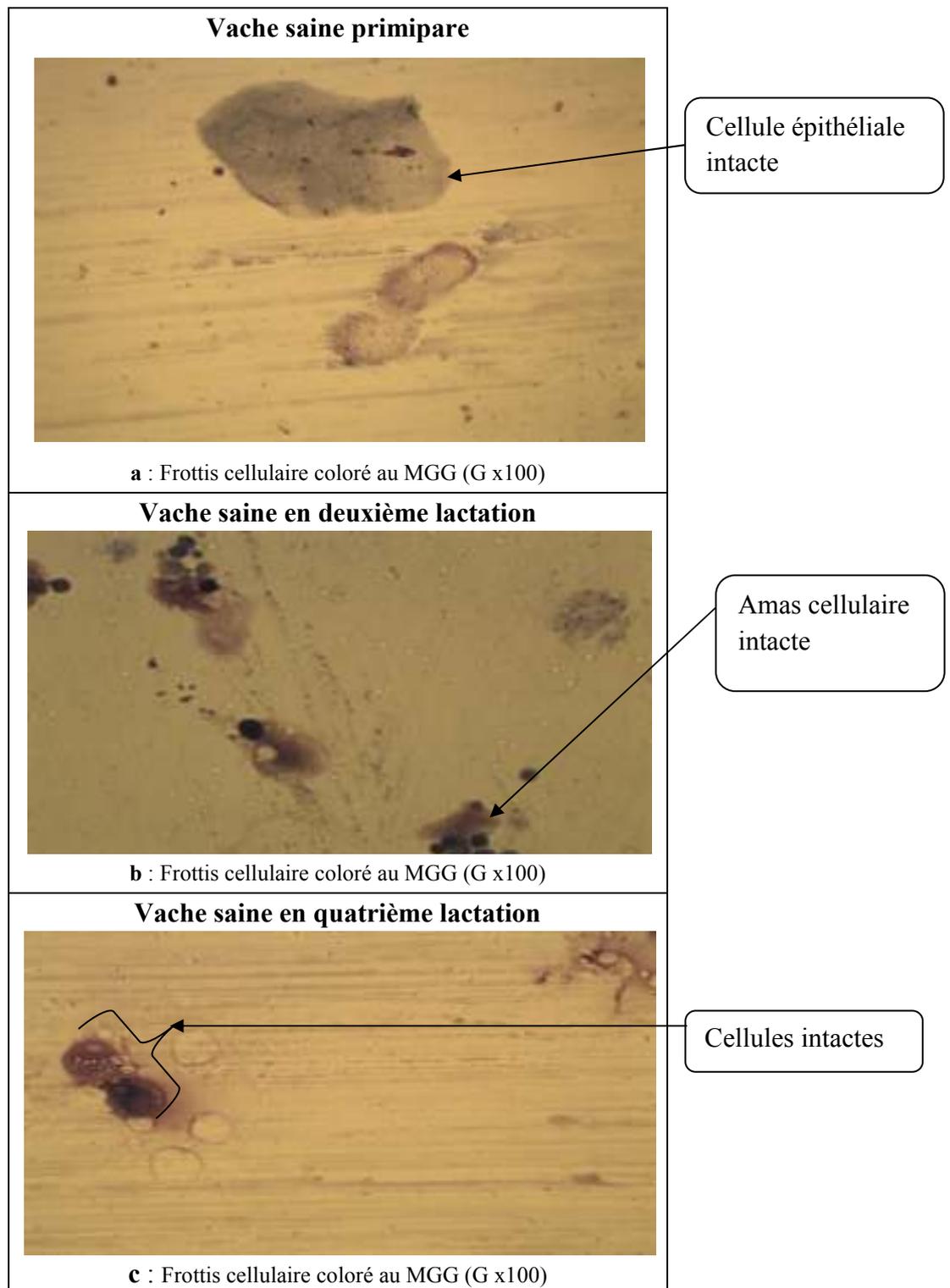
Il est reconnu et établi que l'augmentation de la numération cellulaire est une réponse à l'infection, d'une part et que le rang de lactation et l'âge de l'animal sont des facteurs de variations de la concentration cellulaire, d'autre part. Qu'en est-il de l'aspect cellulaire dans ce dernier cas ?

Pour répondre à cette question, nous nous sommes proposé d'étudier l'aspect cellulaire dans le lait individuel de vache à différents rang de lactation.

### **C. Recherche de la relation entre le rang de lactation et l'aspect cellulaire.**

Les préparations cellulaires issues de lait de vaches saines primipares et multipares (2<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> rang de lactation) ont été observée au microscopique photonique aux grossissements (x10, x40 et x100) pour la recherche d'éventuelles modifications de l'aspect cellulaire.

Nous présenterons ci-dessous (cf, figure 22) l'aspect cellulaire d'un échantillon des préparations issues de lait de vaches saines primipares et multipares (2<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> rang de lactation).



**Figure n°22** : Préparations cellulaires issues de laits provenant de vaches saines primipares et multipares (2<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> rang de lactation) (Photos originales)

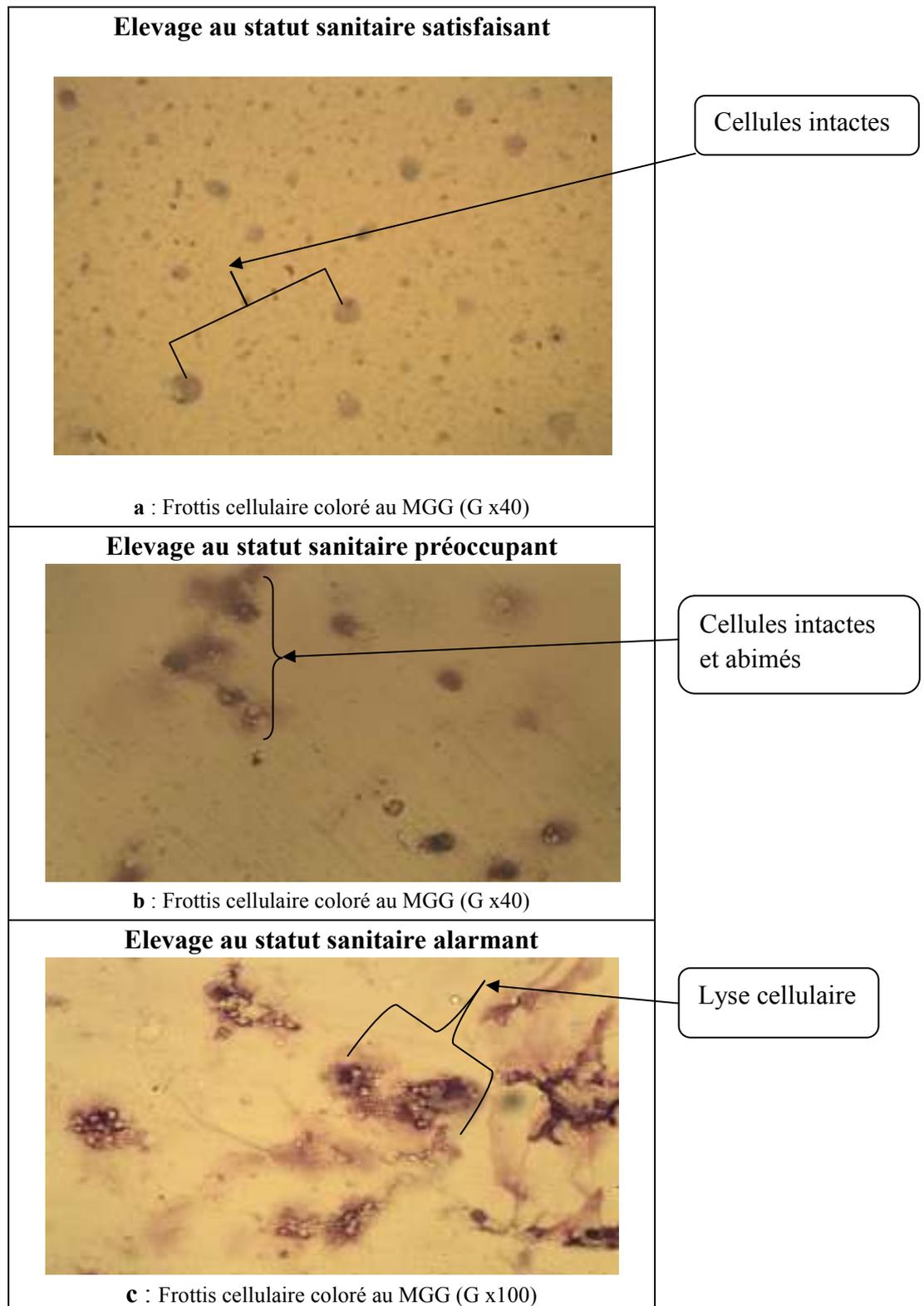
L'observation des frottis cellulaires montre la présence de cellules intactes aux contours bien délimités sur les préparations issues de lait provenant de vaches saines primipares et multipares (2<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> rang de lactation) (Cf. figure 22 a, b et c). L'intégrité cellulaire qui caractérise ces préparations traduit l'absence d'un effet cytopathique, c'est-à-dire l'absence de multiplication intracellulaire de l'agent pathogène viral. Quant à l'augmentation des concentrations cellulaires qui est en relation avec le rang de lactation, elle trouve son explication par l'augmentation de la prévalence d'infection comme rapporté par HARMOUN (1994) ; LAEVENS et al. (1997) et RUPP. (2000).

## **II.2. 2. A l'échelle troupeau :**

L'évaluation du statut sanitaire au moyen de la numération cellulaire du lait a permis de classer les élevages comme suit :

- Trois (3) élevages présentant un statut sanitaire satisfaisant avec une numération cellulaire moyenne comprise entre  $2 \times 10^5$  et  $5 \times 10^5$  cellules/ml, soit un taux de 6,8%.
- Dix sept (17) élevages présentant un statut sanitaire préoccupant avec une numération cellulaire moyenne comprise entre  $5 \times 10^5$  et  $10 \times 10^5$  cellules/ml, soit un taux de 38,6% ;
- Vingt quatre (24) élevages présentant un statut sanitaire alarmant avec une numération cellulaire moyenne supérieure ou égale à  $1,0 \times 10^6$  cellules/ml, soit un taux de 54,5%.

Nous présenterons ci-dessous (cf. figure 23) l'aspect cellulaire d'un échantillon des préparations issues de lait de chaque classe d'élevages, à savoir : satisfaisant, préoccupant et alarmant.



**Figure n°23** : Préparations cellulaires issues des laits de tank de différents statuts sanitaires (satisfaisant, préoccupant, alarmant) (photos originales)

L'observation des frottis cellulaires montre :

- la présence de cellules qui se distinguent par une majorité aux contours bien délimités sur les préparations issues de lait provenant d'élevages au statut sanitaire satisfaisant (Cf. figure 23 a).
- la présence de cellules aux contours irréguliers ou cellules abimées sur les préparations issues de lait provenant d'élevages au statut sanitaire préoccupant (Cf. figure 23 b).
- la présence de fragments de cellules (absence de l'intégrité cellulaire) sur les préparations issues de lait provenant d'élevages au statut sanitaire alarmant (Cf. figure 23 c).

La présence de cellules aux contours réguliers qui caractérise les préparations issues d'élevages dont le statut sanitaire est satisfaisant ne traduit en aucun cas l'absence d'effet cytopathique, du fait de l'effet dilution (mélange de lait provenant de vaches saines et vaches malades avec un taux d'infection faible). Par contre, l'absence d'intégrité cellulaire qui caractérise les préparations issues d'élevages dont le statut sanitaire est préoccupant et alarmant ne peut traduire que la présence de l'effet cytopathique recherché, c'est-à-dire la multiplication intracellulaire de l'agent pathogène viral.

L'augmentation des concentrations cellulaires qui caractérise les élevages dont le statut sanitaire est préoccupant et alarmant trouve son explication dans le taux élevés de quartiers infectés. En effet, l'augmentation des comptages moyens de lait de troupeau par lactation est en relation avec la proportion de vaches classées "infectées" (RUPP et al., 2000).

## CONCLUSION

Les résultats du comptage des cellules somatiques ont révélé que plus de la moitié des élevages présentaient une NCT élevée (supérieure à  $10 \times 10^5$ ), ce qui reflète un statut sanitaire assez alarmant se traduisant par un des taux d'infection élevés.

Pour la caractérisation de l'infection virale

A l'échelle individuelle, L'aspect cellulaire anormal des laits, provenant de vaches malades, pourrait s'expliquer par la multiplication virale dans la glande mammaire et correspondrait à un effet cytopathique .

La différence observée dans l'aspect cellulaire des laits en relation avec le stade de l'infection (mammite subclinique vs mammite clinique); est aussi en étroite relation avec les concentrations cellulaires individuelles obtenues.

L'intégrité cellulaire associée à l'augmentation de la numération cellulaire caractérisée chez les vaches saines multipares semble être en relation avec le rang de lactation et traduit l'absence d'un effet cytopathique

A l'échelle troupeau, La présence de cellules aux contours réguliers dans les laits d'élevages au statut sanitaire satisfaisant ne traduit aucunement l'absence de multiplication virale (effet cytopathique) du fait de l'effet dilution.

Par contre, l'absence d'intégrité cellulaire dans les laits d'élevages au statut sanitaire préoccupant et alarmant traduit la présence d'une multiplication virale, à savoir l'effet cytopathique recherché.

L'infection virale de la glande mammaire, décrite ailleurs, semble réellement exister dans nos élevages.

En perspective de la présente étude, nous projetons de caractériser les agents pathogènes viraux impliqués par biologie moléculaire (PCR multiplex).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ▣ **Allay J., Charrin M., Plas C., Riviere M., Vanneste P. et Vanneste S.**, Analyses biologiques: Sujets de BTS corrigés, Ed : DOIN, (2001).
- ▣ **Amellal R.**, La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance, Département Economie Rurale, INA El Harrach, Alger (Algérie), (2000).
- ▣ **Anonyme 1** : [Www.Princesse-Lavache.Com](http://www.Princesse-Lavache.Com)
- ▣ **Arfi L.**, Le canal du trayon: son rôle barrière, Accidents et maladies du trayon, Ed : France Agricole, 1<sup>re</sup> Edition, (1995), 23-26.
- ▣ **Adelberg E.A., Melnick J.L. et Jawetz E.**, Microbiologie médicale, *broché d'édition* (1973) ,629p.
- ▣ **Badinand F.**, Maîtrise du taux cellulaire du lait, Recueil Méd. Vét., V.170, (2001), 419-427.
- ▣ **Baillargeon J.**, Le CMT n'a pas dit son dernier mot, Réseau canadien de recherche sur la mammite bovine. Flash mammites, V.1, n°(3), (2005).
- ▣ **Ben hassen S.1., Messadi L.1. et Ben hassen A.**, Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite, Ann ; Méd. Vét., V.147, (2003), 41-47.
- ▣ **Bergonier D., Cremoux R. and Rupp R.**, Mastitis of dairy small ruminants, Vet Res., V.34, (2003), 689-716.
- ▣ **Bergonier D., Lagriffoul G., Berth Lot X. et Barillet F.**, Facteurs de variation non infectieux des comptages de cellules somatiques chez les ovins et caprins laitiers, Proc Int Symp A Somatic cells and milk of small ruminants, Bella, Italy, (1994).

- ▣ **Beroual K.**, Caractérisation des germes d'origine bactérienne responsables des mammites bovines dans la région de la Mitidja". Mémoire de magister en sciences vétérinaires USDB, (2003).
- ▣ **Bony J. et Pomièsle D.**, Robot de traite, aspect technique et économique, INRA, (2002).
- ▣ **Bouchot M.C., Catel J., Chirol L., Ganiere J.P et Lemenec M.**, Diagnostics bactériologiques des infections mammaires des bovins, Méd. Vét., V.161, (1985), 567-577.
- ▣ **Brion F., Cabrol D., Moriotte G. et Pons G.**, Les médicaments en périnatalogie, collection de périnatalité, Ed : Masson, (2003), 411 p.
- ▣ **Burvenich H., Dosogne H., Detilleux D. et Vanweren T.**, Est-il possible de prédire la stérilité des mammites par la mesure de l'activité des polynucléaires circulants, Journées nationales GTV.INRA, (1999), 31-41.
- ▣ **Craven N. and Williams M.R.**, Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement, Vet. immunol. and immunopathology, V.10, (1985), 71-127.
- ▣ **Cullen G. A.**, Cells in milk, The veterinary bulletin, (1966), 337-346.
- ▣ **Delmas J.**, Pharma-mémo: Moyens mnémotechniques pour les études de pharmacie, Ed : Scientifiques, Techniques et Médicales (ESTEM), (1997).
- ▣ **Denis F.**, Les Virus transmissibles de la mère à l'enfant, Ed : John Libbey, ISBN, (1999).
- ▣ **Derivaux J. et Ectors F.**, Physiologie de la gestation et obstétrique vétérinaire, Ed : du point vétérinaire, (1980), 273p.
- ▣ **Djabri B.**, Nature et rôle des cellules somatiques présentes dans le lait et facteurs de variations de leur concentration chez la vache laitière, Mémoire de D.E.A de biologie et production animale rennes, (1999).

- ▣ **Dosongne H., Arendit J., Gabreil A. et Burvenich C.** Aspects physiologiques de la sécrétion laitière par la mamelle bovine, *Ann .méd .vét.*, V.144, (2000), 357-382.
  
- ▣ **Erik P. H.**, *Histologie du tissu sanguine*, (1997), 256-277.
  
- ▣ **Fabre J.M., Morvan H., Lebreux B., Hanffschmitt P., Berthelot X.**, Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France, *Mammite subclinique*, G T V., (1997), 573. 9-15.
  
- ▣ **Fairbairn D.J. and Law B.A.**, Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects and control, *J. Dairy Res.*, V. 53, (1986), 139-177.
  
- ▣ **Fanica P.O.**, *Le lait, la vache et le citadin: du XVIIe au XXe siècle*, (2008), 489 p.
  
- ▣ **Faroult B.**, *Les mammites subcliniques et les mammites cliniques aiguës. Maladies des bovins*, 3<sup>ème</sup> éditions France Agricole, (2000), 64-75.
  
- ▣ **Faroult B.**, *Méthodologie d'approche des infections mammaires en troupeau laitier et maîtrise de la qualité hygiénique du lait*, *Rec. Méd.Vét.*, V.180, (1994), 469-478.
  
- ▣ **Frost A.J., Wanasingne D.D. and Wolcook J.B.**, Some factors affecting selective adherence of micro organisms in the bovine mammary gland, *Infect. Immun.*, V.15, (1977), 245-253.
  
- ▣ **Gambo H. et Agnem Etchike C.**, Dépistage de mammites subcliniques chez les vaches Goudali en lactation en nord Cameroun, *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, V.54, n°(1), (2001), 5-10.
  
- ▣ **Gharbi S.**, *Essai de dépistage des mammites au moyen d'un Coulter counter : étude préliminaire dans la région de la mitidja*, Mémoire de magister, Université SAAD Dahlab blida, (2002), 135p.
  
- ▣ **Girard J.**, *Anatomie des animaux domestiques*, (1807), 554 p.
  
- ▣ **Gourreau J.M.**, *Accidents et maladies du trayon* ». Manuel pratique, Ed : France Agricole, (1995), 45p.



- ▣ **Kebbal S.**, Méthodes de diagnostic des mammites et facteurs de risques- enquête dans la région de la Mitidja, Mémoire de magister INV, Université de Blida, (2002).
  
- ▣ **Kuck A.L., Schutz M. M., Hansen L.B. and Steuernagel G.R.**, Variation of milk fat, protein and somatic cell for dairy cattle, (1990), 484-493.
  
- ▣ **Lagrange P.H.**, Le système phagocytaire mononuclée: les macrophages et l'infection, Ed : PHARMUKA, (1987), 122p.
  
- ▣ **Lagriffoul G., Bergonier D., Berthelot X.**, Facteurs de variation génétiques et non génétiques des comptages de cellules somatiques du lait de brebis en relation avec les caractères laitiers et les mesures portant sur le lait de tank, Proceedings of Somatic cells and milk of Small Ruminants, International Symposium, Bella, Italy (1996), 149-155.
  
- ▣ **Lamarche A., Martin B., Hauwuy A., Bapstiste Coulon J. and Poutrel B.**, Evolution of milk somatic cell cont of cows grazing an alpine pasture according to the infection of udder by pathogens, Ann. Zootech., V.49, (2000), 45-54.
  
- ▣ **Le Gall**, Lammation virale, Département d'Anatomo-pathologie; CHU de Rennes, (2001).
  
- ▣ **Le Roux Y.**, Conductibilité électrique et qualité du lait: Notions de conductibilité électrique, ENSAIA, Laboratoire de Sciences Animales, (1999).
  
- ▣ **Lee C.S., Wooding F.B.P. and Kemp P.**, Identification properties and differencial counts of cell populations using electron microscopy of dry secretions, colostrum and milk from normal cows, J. Dairy Research., V.47, (1980), 39-50.
  
- ▣ **Lepage P.H.**, Les cellules du lait et de la mamelle, GTV. INRA., Nantes/ 26- 27-28 Mai (1999), 7-13.
  
- ▣ **Lévesque P. et Hetreau T.**, La traite des vaches laitières, étape par étape vers la qualité, guide pratique, Institut de technologie agroalimentaire, Ed : Educgri (centre d'élevage de poisys), (2007).

- ▣ **MADR : MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DU DEVELOPEMENT RURAL.**, Direction des services statistiques. 2002.
  
- ▣ **Mammette A.**, Virologie médicale, Presses universitaires de Lyon, (2002), 798 p.
  
- ▣ **Maillet M.**, Biologie cellulaire, Ed : Masson, (2006), 618 p.
  
- ▣ **Mc Donald J. S. and Anderson A.J.**, Total and differential somatic cell counts in secretions from noninfected bovine mammary glands: the early nonlactating period, Am. J. Vet. Res., V.42, (1981), 1360-1365.
  
- ▣ **Meissonnier E.**, Infections par les bactéries coliformes en période de tarissement chez les vaches laitières, Bulletin G.T.V., V.4, (1995), 9-16.
  
- ▣ **Meyer C. et Denis J.P.**, Elevage de la vache laitière en zone tropicale, Mémoire de DESS, CIRAD, (1999), 316 p.
  
- ▣ **Nielsen M., Schukken Y.H. and Brand A.**, Detection of subclinical mastitis from on-line milking parlor data, J. Dairy Sci., V.78, (1995), 1039-1049.
  
- ▣ **Noireterre P.**, Suivi de comptages cellulaires et d'examen bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. Etude expérimentale au centre d'élevage Lucien Bizet de Poisy .thèse pour obtention de grade de docteur vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, (2006).
  
- ▣ **Paape M., Vanoostveldt K. et Meyer E.**, Défense phagocytaire de la glande mammaire bovine, (1999), 16-21.
  
- ▣ **Paape M.J., Bannerman D.D., Zha O.X. and Lee J. W.**, The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk, Vet. Res., V.34, (2003), 597-627.
  
- ▣ **Payment P. et Trudel M.**, Manuel de techniques virologiques, UREF, Université de Québec, (1989).

- ▣ **Poutrel B.**, Généralités sur les mammites de la vache laitière : Processus, infection, épidémiologique, diagnostique et méthodes de contrôle, Rec. Méd. Vét., V.161, (1985), 497-511.
  
- ▣ **Poutrel B.**, L'amélioration de la qualité du lait par la lutte contre les mammites bovines, Médecine et Nutrition, V.22, (1986), 318-324.
  
- ▣ **Poutrel B.**, Les staphylocoques et les streptocoques de mammité: Les groupes microbiens d'intérêt laitier, In Hermier J., Lenoir J., Weber F., Paris : CEPIL (Centre de formation Permanente et de perfectionnement des cadres des Industries du Lait), (1992), 568 p.
  
- ▣ **Radostits, O.M ; Blood, D.C., C.C ; Mastitis.** In: Veterinary Medicine. Baillière Tindal, London, 1994.
  
- ▣ **Revillard J.P.**, Immunologie, Ed. DE Boeck Université (3<sup>ème</sup> édition), (1998), 113p.
  
- ▣ **Riollet C., Rainard P. et Poutrel B.**, Cinétiques de recrutement cellulaire et de multiplication bactérienne après infection, Journée Nationale GTV-INRA, Nantes, France, Cellules somatiques du lait, (1999), 23-28.
  
- ▣ **Robert D. et Vian B.**, Éléments de biologie cellulaire, 3<sup>e</sup> édition, docteurs, groupe liaisons, (2004), 428 p.
  
- ▣ **Rodenburg J.**, Fiche technique originale ; Spécialiste en production laitière, Techniques d'Élevage/ MAAARO..
  
- ▣ **Roitt, Brostoff et Male**, Immunologie, 3<sup>ème</sup> édition. Traduit de l'anglais par Revillard J.P et Fridman W.H., Ed : De Boeck-Université, (1994).
  
- ▣ **Rupp R., Bouchard D., Bertrand C. et Bazin S.**, Bilan national des numérations cellulaires dans le lait des différentes races bovines laitières, I N R A, prod. Anim., 257-267.

- ▣ **Rychembusch V.**, Le coût des maladies est souvent sous-estimé. Dossier réussir spécial médicaments vétérinaires, 2005.
  
- ▣ **Schalm O.W. and Lasmanais J.**, The leukocytes: origin and functions in mastitis, J A.V.M.A., V.153, (1968), 1688-1694.
  
- ▣ **Schepers A.J., Lam T.J., Schukken Y.H., Wilmink J.B. and Hanekamp W.J.**, Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters, Journal Dairy. Scien., V.80, (1997), 1933-1940.
  
- ▣ **Sébahoun G.**, Hématologie clinique et biologique, 2<sup>ème</sup> Édition, ARNETTE , GROUP LIAISONS SA, (2005), 592p.
  
- ▣ **Serieys F.**, Concentration cellulaires du lait individuel de vaches : influence de l'été d'infections mammaires, du numéro, du stade de lactation et de a production laitière, Recueil Méd. Vét., V.161, (1985). 553-566.
  
- ▣ **Smith L., Hogan J. S. et Weiss W.P.**, Effet de sélénium et de la vitamine E sur la fonction phagocytaire et le contrôle des mammites, J. N. G T V. I N R A., (1999), 55-59.
  
- ▣ **Sordillo L.M., Shafer-weaver K. and De Rosa D.**, Symposium: bovine immunology. Immunobiology of the mammary gland, J. Dairy Sci., V.80, (1997), 1851-1865.
  
- ▣ **Targowski S.P.**, Role of immune factors in protection of mammary gland, J. Dairy Sci., V.66, (1983), 1781-1789.
  
- ▣ **Thibault C. et Levasseur M.C.** Tarissement : La reproduction chez les mammifères et l'homme, (2001), 928 p.
  
- ▣ **Thiry E.**, Virologie vétérinaire, 3<sup>e</sup> BACVT, Université de liège.
  
- ▣ **Vanderstocken S.**, Study on somatic cell counts in milk of Belgian Holstein cows. Estimations of genetic parameters. Gembloux : FUSAGx, 2000. 71 pp.

- ▣ **Vignola C.L.**, Science et technologie du lait: transformation du lait, Fondation de technologie laitière du Québec, (2002), 600 p.
  
- ▣ **Wellenberg,G.J., Verstraten,E.R.A.M., Jongejan, F.,VanOirschot, J.T.**, Susceptibility of bovine umbilical cord endothelial cells to bovine herpesviruses and pseudocowpox virus (submitted), (2001).
  
- ▣ **Wattiaux M.**, Lactation et récolte du lait, chapitre 23 : la maladie et sa transmission, The Babcock Institute International Dairy Research and development, (2005).
  
- ▣ **Weisen J. P.**, La stratégie de la lutte anti-mammite (La prophylaxie des mammites), Ed : Vigot Frère, (1974), 43-79.
  
- ▣ **Yves L.R.**, Les mammites chez la vache laitière: Diagnostic et contrôle de la maladie dans l'exploitation, (1999).
  
- ▣ **Zajdela A. Vielh P. et loigi bonito,piccin**, Manuel et atlas de cytologie mammaire, Ed : Piccin, (1995), 244p.

## ANNEXE 1

### PETITS MATERIELS

- **Pipettes Pasteur** : sont des tubes fins de verre ; Le prélèvement s'effectue par aspiration, elles sont à usage unique, sont particulièrement utilisées pour prélever des petits volumes d'un liquide.
- **Micro pipette** : est un instrument en plastique servant à prélever une faible quantité d'un liquide souhaité à l'aide d'un embout. La précision est beaucoup plus grande qu'avec une pipette manuelle.
- **Embouts**
- **Tubes conique** : sont des tubes en plastique de forme conique et gradués, ils peuvent porter jusqu'à 15 ml, facile à centrifuger

## ANNEXE 2

### TEST CMT

#### \* Le test « CMT » :

Le CMT (California Mastitis Test), encore appelé "test au Teepol", sert à évaluer le niveau d'inflammation de la mamelle (nombre de cellules par ml de lait). Basé sur une appréciation visuelle des résultats, il est beaucoup moins précis que les dénombrements cellulaires électroniques.

#### • Mode opératoire :

- Nettoyer la mamelle avec un désinfectant.
- Éliminer les premiers jets
- Pour chaque quartier, traire quelques jets de lait dans chaque récipient de la palette correspondant (AD, PD, AG, PG).
- Faire incliner la palette de manière à ce que la quantité de lait ne dépasse pas le niveau marqué au fond de chaque récipient. Il reste alors 2ml dans chacun.
- Ajouter 2ml de Teepol dans chaque récipient.
- Mélanger pendant 30 seconds minimums par des mouvements de rotation horizontale en surveillant les modifications de la consistance du liquide.
- Incliner la palette et observer la viscosité du liquide, apprécier alors par transparence la présence éventuelle et l'aspect du flocculat. .
- Noter le résultat et nettoyer le plateau à l'eau claire entre chaque vache.

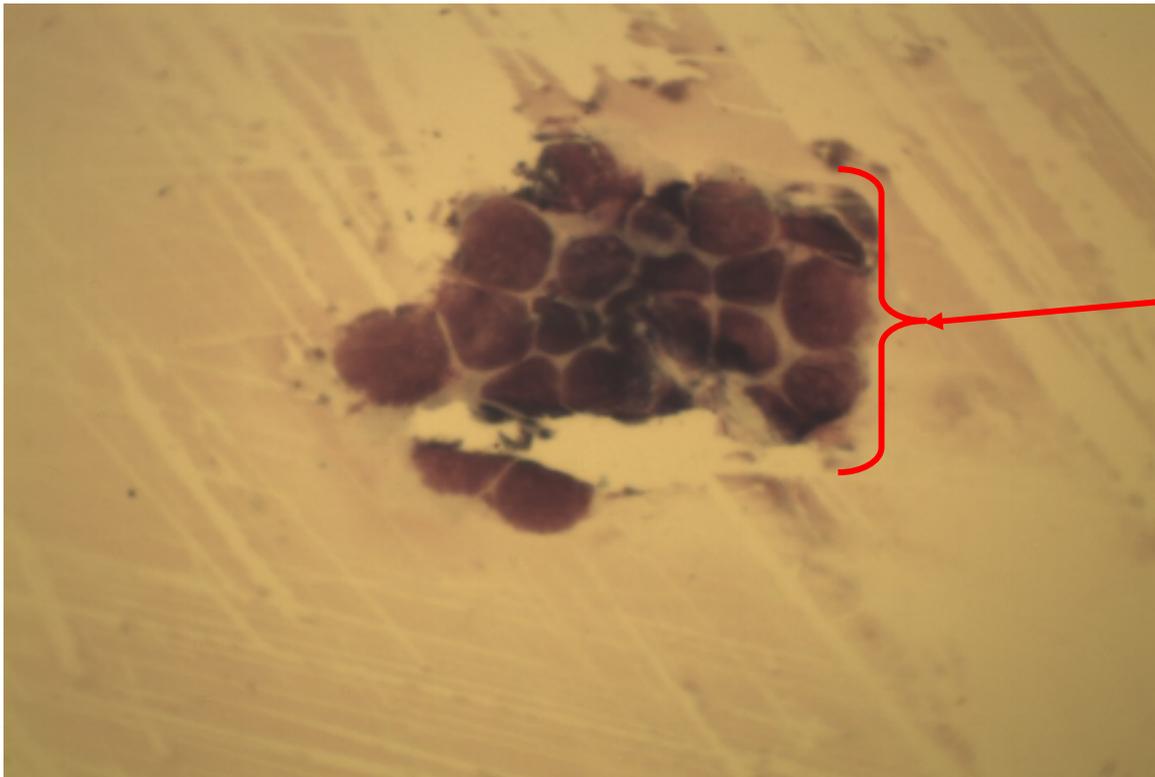


**LE KIT CMT**

## **ANNEXE 3**

### **LES PRÉPARATIONS CELLULAIRES**

**Préparations cellulaires issues du lait de vache saine :**



**Amas cellulaire  
intacte**

**Échantillon N°72400 X10**

**Préparations cellulaires issues du lait de vaches saines primipares :**



**Cellule épithéliale  
intacte**

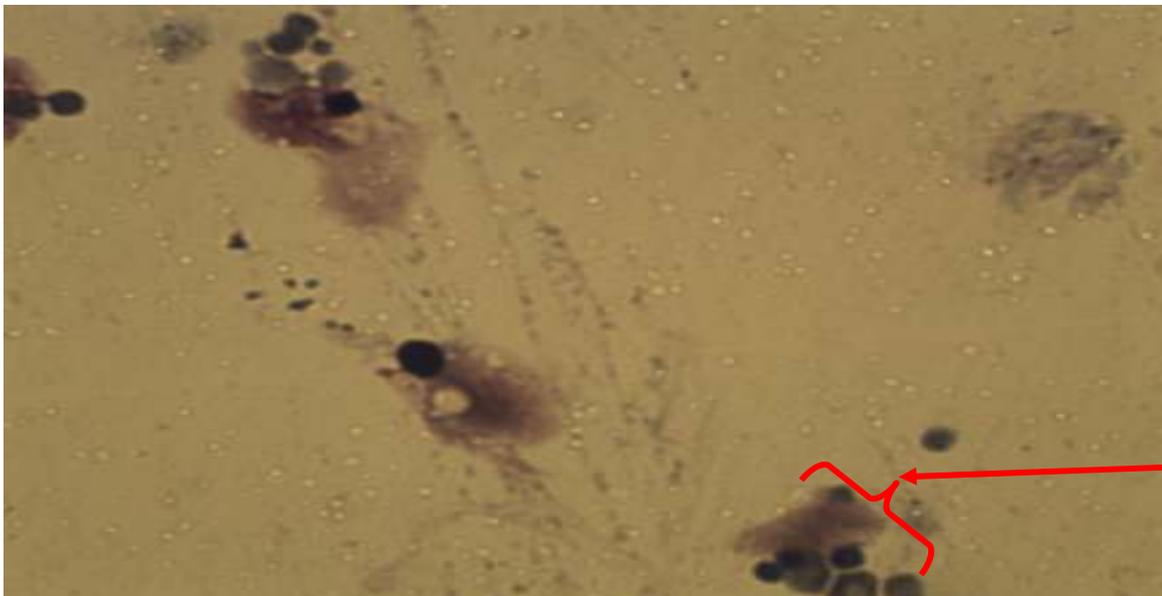
**Échantillon N°64319 X100**

**Préparations cellulaires issues du lait de vaches saines 2 lactations :**



**Cellule épithéliale  
intacte**

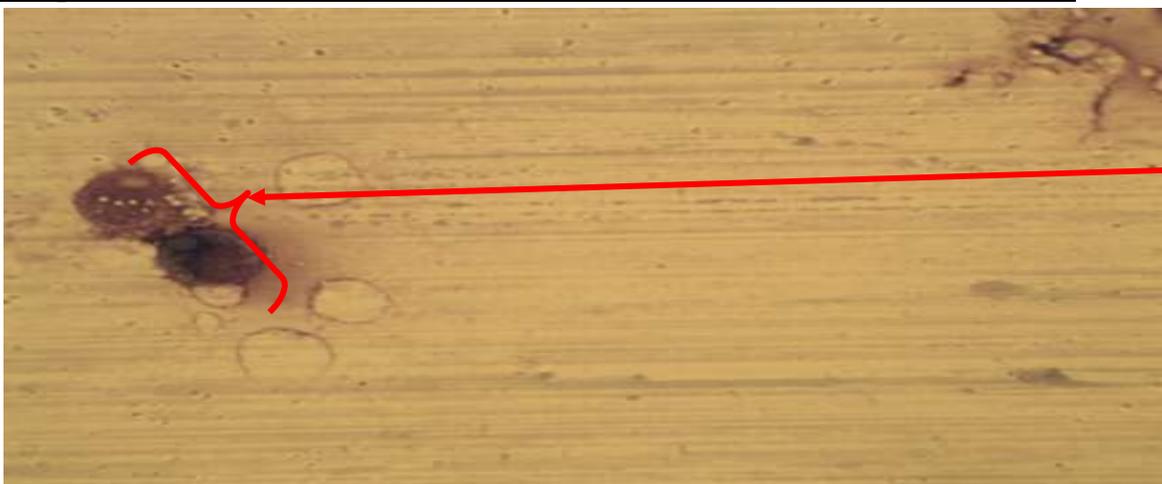
**Échantillon N°07003 X100**



**Amas cellulaire  
intacte**

**Échantillon N° 94674 X100**

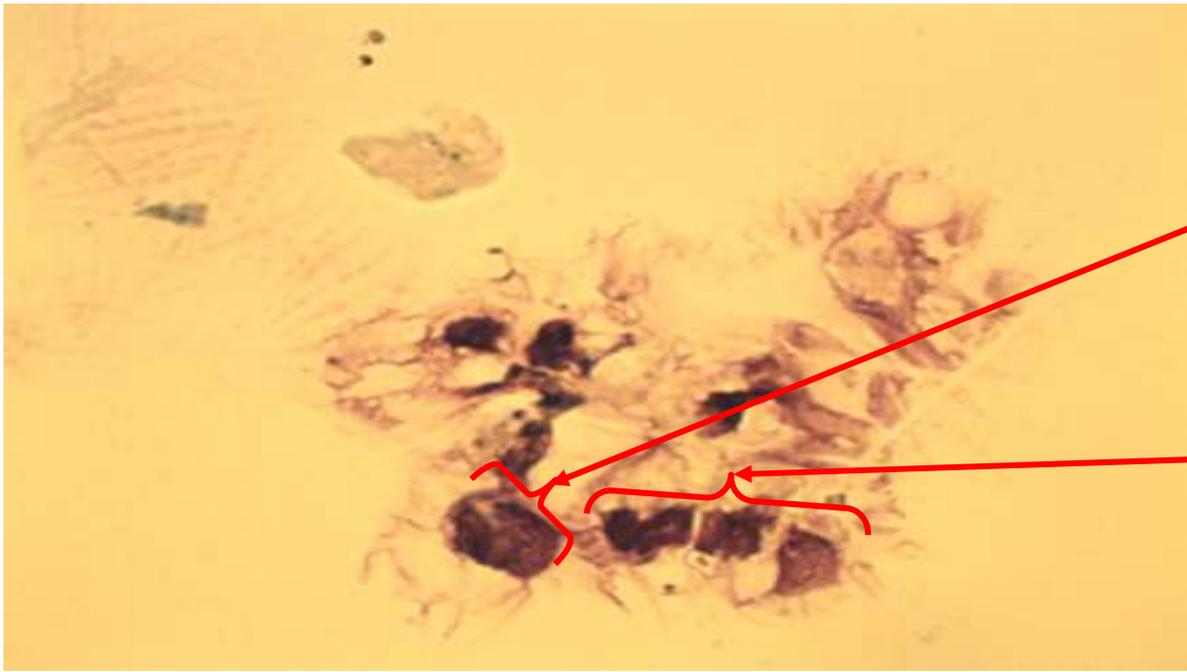
**Préparations cellulaires issues du lait de vaches saines 4 lactations :**



**Cellules intactes**

**Échantillon N°05034 X100**

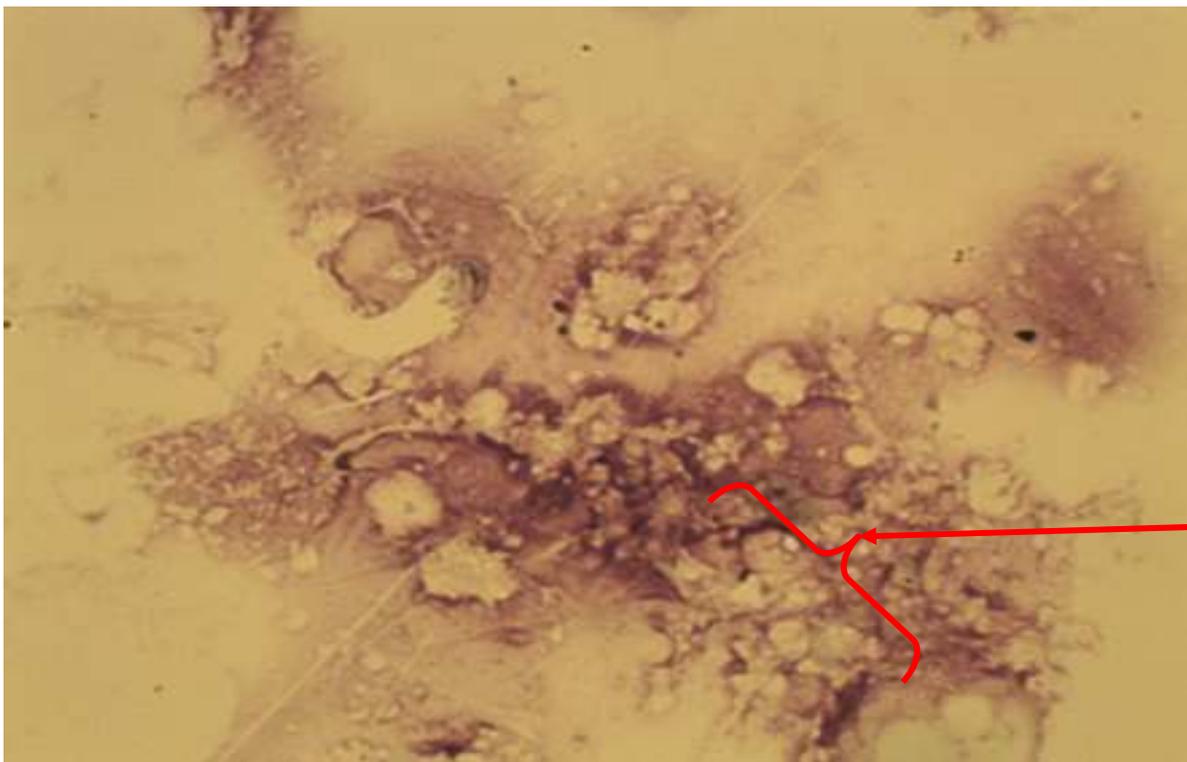
**Préparations cellulaires issues du lait de vaches malades : mammite subclinique :**



**Cellule intacte**

**Lyse cellulaire**

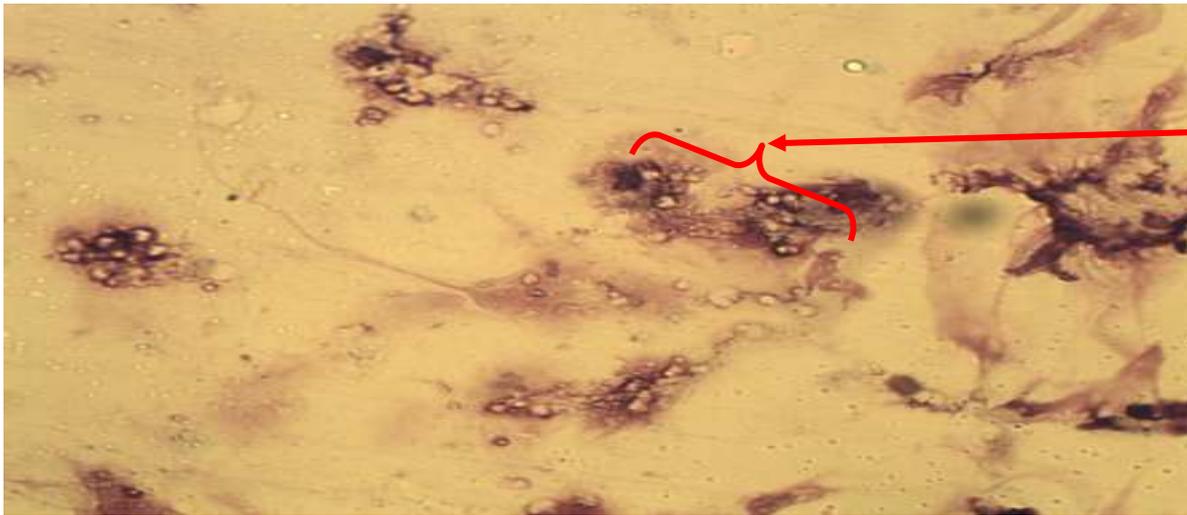
**Échantillon N°85661 X100**



**Absence totale  
d'intégrité  
cellulaire**

**Échantillon N°00135 X100**

**Préparations cellulaires issues du lait de vaches malades : mammite clinique :**



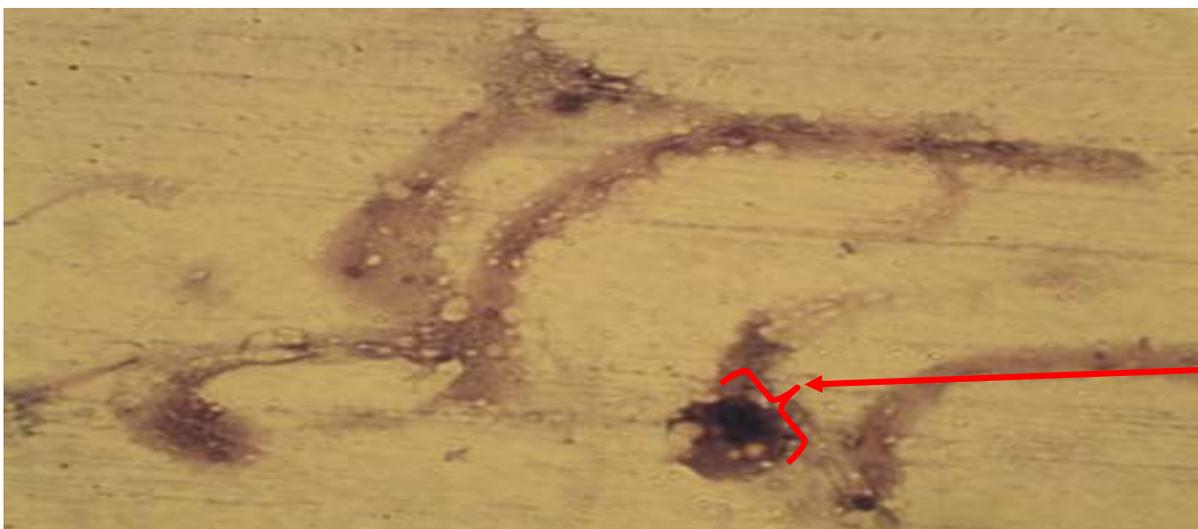
Lyse cellulaire

**Échantillon N°1 NI X100**



Lyse cellulaire

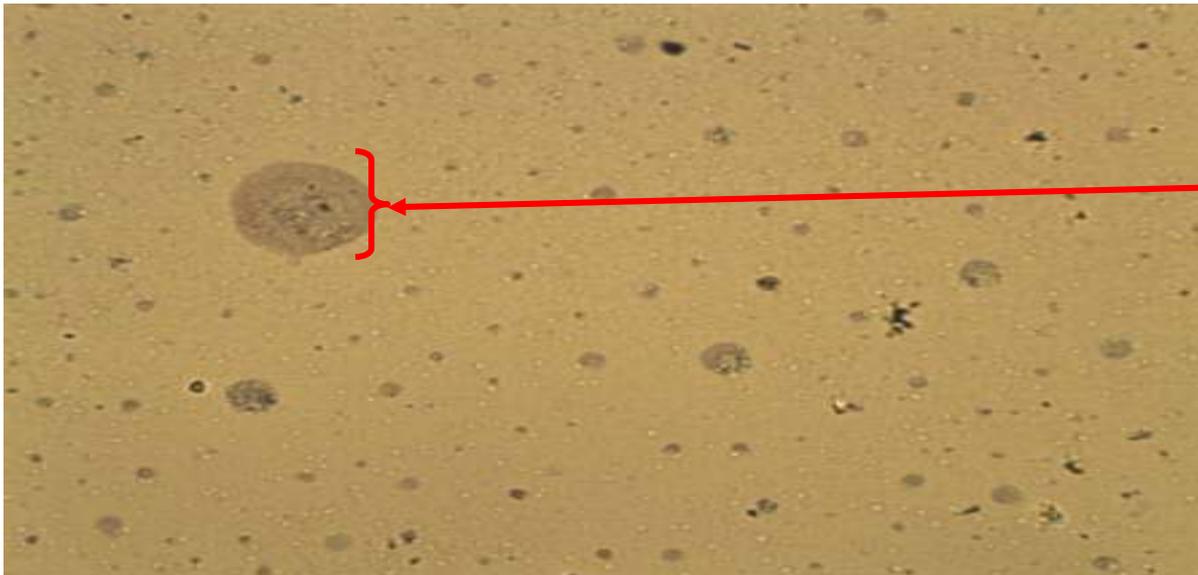
**Échantillon N°2 NI X100**



Cellule lysée

**Échantillon N°3 NI X100**

**Préparations cellulaires issues du lait de tank : statut satisfaisant :**



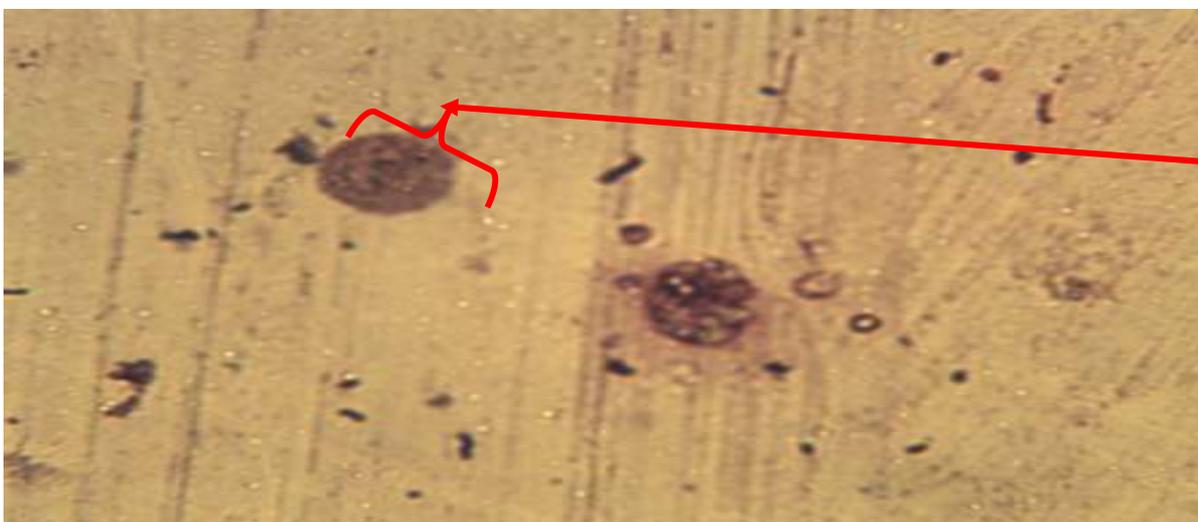
**Cellule intacte**

**Échantillon N°5 X100**



**Cellules  
intactes**

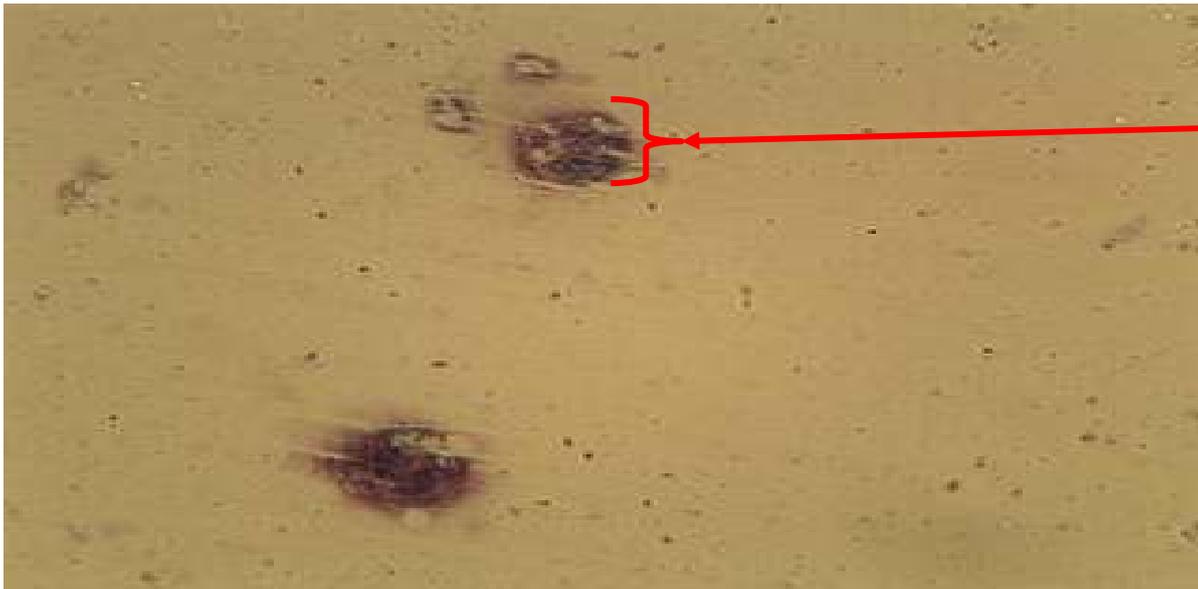
**Échantillon N°15 X100**



**Cellule avec  
contour bien  
régulier**

**Échantillon N°32 X100**

Préparations cellulaires issues du lait de tank : statut préoccupant :



Cellule abimée

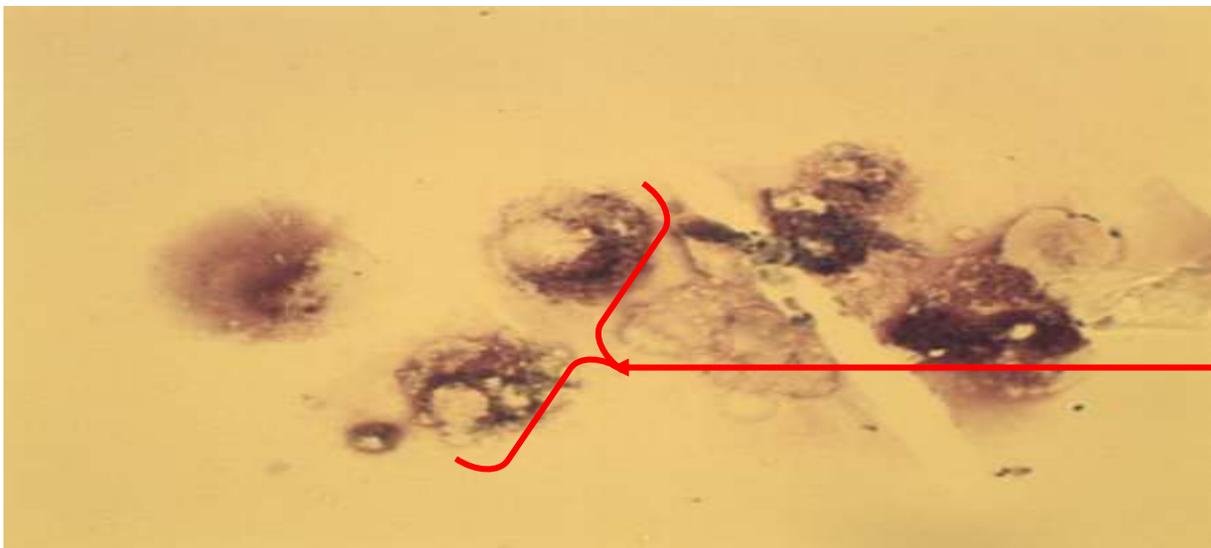
Échantillon N°20 X100



Cellule intacte

Cellule lysée

Échantillon N°23 X100



Cellules abimées

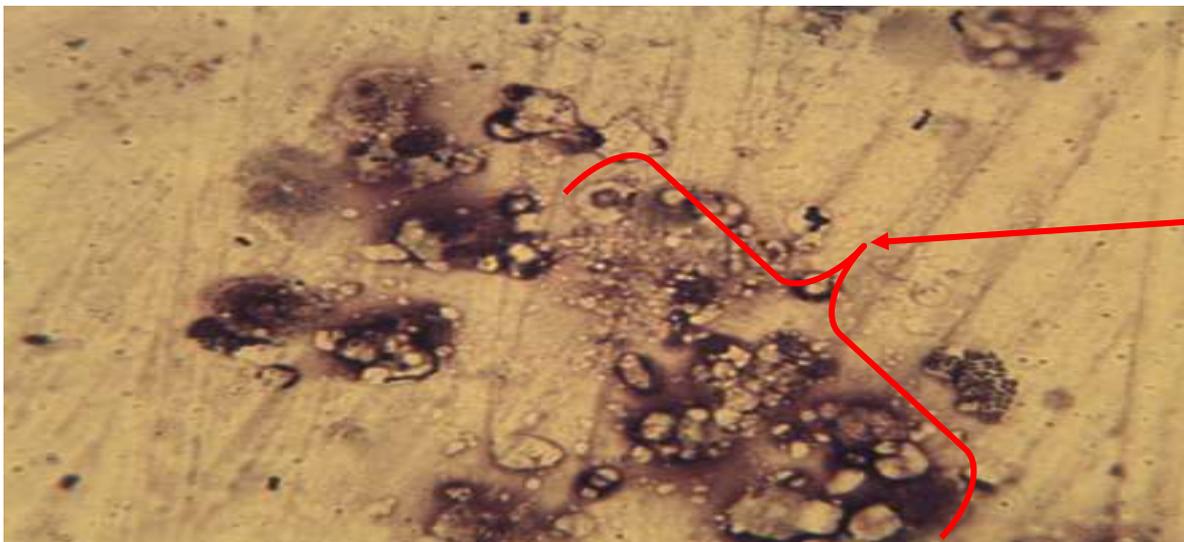
Échantillon N°29 X100

**Préparations cellulaires issues du lait de tank : statut alarmant :**



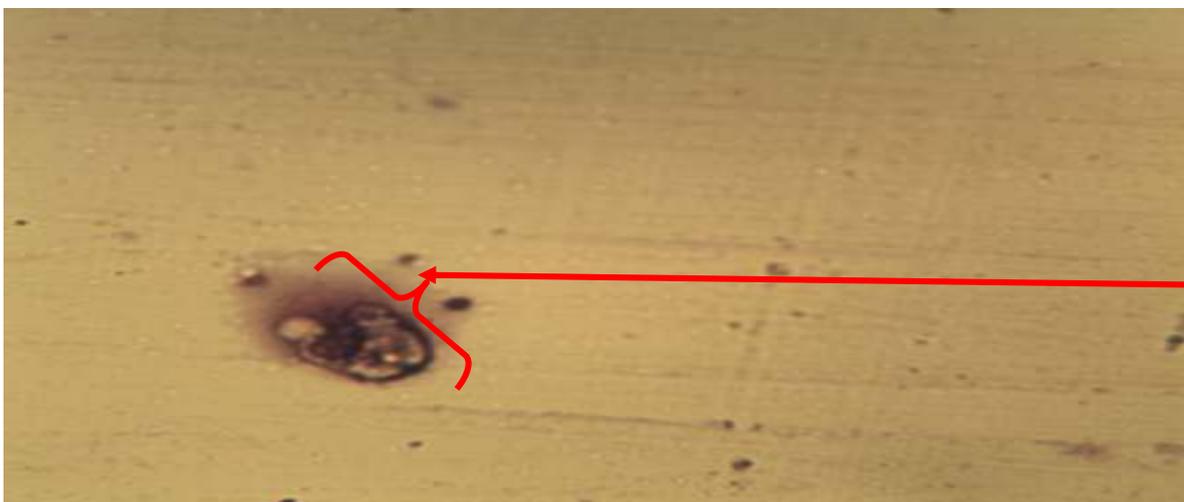
**Cellules  
lysées**

**Échantillon N°10 X100**



**Absence totale  
d'intégrité  
cellulaire**

**Échantillon N°16 X100**



**Cellule éclatée**

**Échantillon N°22 X100**