

REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université Saad DAHLAB, Blida
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département des Sciences Vétérinaires

Mémoire
Pour l'obtention du Diplôme de Magister
en Sciences Vétérinaires

Option : REPRODUCTION

THEME

« ESSAI DE DEPISTAGE DES MAMMITES
AU MOYEN D'UN COULTER COUNTER :
ETUDE PRELIMINAIRE DANS LA REGION DE LA MITIDJA »

Présenté par :
GHARBI Smail

Jury :

OUZROUT R, professeur, Centre Universitaire El Tarf

Président

KAIDI R, MC, Université Saad DAHLAB Blida

Examineur

NIAR Abdellatif, CC, Université de Tiaret

Examineur

GUETARNI D, MC, Université Saad DAHLAB Blida

Promoteur

Septembre 2002

Dédicaces

Je dédie ce travail:

A mes chers parents, mère et père en témoignage de leur patience et de leur encouragements,

A Tous Mes frères et sœur, Sid ahmed , Yaçine, Mohamed , Amel ,.

A la petite famille de mon Frère Noredinne et Hadjira

Aux petits oiseaux, Mohamed amine, Youçef , Maroua

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma reconnaissance et toute ma gratitude à mon promoteur Dr Guetarni Djamel pour ses conseils, son aide précieuse et le soutien moral qu'il n'a cessé de me prodiguer tout au long de la réalisation de ce modeste travail. Sa compétence, sa disponibilité, sa patience et son sens du travail bien fait m'ont été d'un grand secours.

Mes remerciements vont à :

Monsieur le Pr Ouzrout R pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury,
Messieurs les docteurs Niar A et Kaidi R pour l'enseignement en post graduation
et pour avoir accepté de juger ce travail.

J'adresse un grand merci à Mme Guetarni A pour sa gentillesse et ses encouragements inoubliables et pour l'accueil chaleureux au sein de son domicile.

Je remercie également monsieur Réda Tekerboust et Meghni Euthmane pour toute l'aide apportée dans le traitement informatique et statistique. La pertinence de leurs analyses a aidé à la clarté de mon travail.

Qu'il me soit permis ici d'exprimer toute ma gratitude aux responsables de la laiterie de Beni Tamou et à messieurs Lebres H de l'institut de pasteur et Touahria M pour m'avoir aidé à la réalisation du présent travail avec toutes les facilités souhaitées.

Ainsi je remercie l'équipe Khalil, Benhanifia M, Moumen N, Yalini A pour le réconfort et la bonne ambiance appréciable aux moments difficiles.

En fin, mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation du présent travail.

Ce travail n'aurait pu avoir lieu sans le support de :

- Notre ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
- Notre université SAAD DAHLEB, de Blida
- Notre département des sciences Vétérinaires de Blida

TABLES DES MATIERES

	Pages
LISTE DES FIGURES	I
LISTE DES TABLEAUX	IV
LISTE DES ANNEXES	VI
LISTE DES ABREVIATIONS	VII
RESUME	VIII
PROBLEMATIQUE	IX
INTRODUCTION	X
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	1
CHAPITRE I : RAPPELS ANATOMO -PHYSIOLOGIQUES DE LA GLANDE MAMMAIRE.	2
I 1- ANATOMIE :	2
I.1.1- Structure anatomique externe (conformation externe)	2
I.1.2- Structure anatomique interne (histologie)	3
I.1.2.1. Tissu Tubulo-alvéolaire	3
I.1.2.1.1. Alvéole (acinus)	4
I.1.2.1.2. Tubules (canaux, sinus)	5
I. 1 .2 .2. Tissu de soutien	5
I.2- FONCTIONNEMENT ET MECANISME DE SYNTHÈSE :	7
I.2.1. La lactation	7
I.2.1.1. La lactogénèse	7
I.2.1.2. La galactopoïèse	7
I.2.1.2.1. Le lait	8
a- Composition chimique	9
1- Le lactose	9
2- Les lipides (matière grasse)	10
3- Les protéines	10
3.1. L'azote non protéique	10
3.2. Les protéines vraies	10
3.2.1- Les caséines	11
3.2.2- Les protéines sériques	11
4- Les minéraux	11
b. Composition bactériologique	12
1-flore non pathogène	12
2-flore pathogène	12
I.2.1.2.2 Le colostrum	13
I.2.2. Le tarissement (période sèche)	13
CHAPITRE II : PATHOLOGIE DE LA GLANDE MAMMAIRE (Mammites)	14
I. Etiologie :	14
I 1 Les staphylocoques	14
I 2 Les Streptocoques	14
I 3 Les Entérobactéries	14
II. Symptomatologie	15
II.1. Infections Latentes	16

II.2. La mammite subclinique	16
II.3. La mammite clinique	16
a. Le type suraigu	16
b. Le type aigu	17
c. Le type subaigu	17
II.4 La mammite chronique	17
II.5. Les mammites non spécifiques	17
III. Pathogénie	17
IV. Le Diagnostic	18
IV 1. Diagnostic des mammites cliniques	18
a. Les symptômes généraux	19
b. Les symptômes locaux	19
c. Les symptômes fonctionnels	19
IV .2. Diagnostic des mammites sub-cliniques	20
IV .2 1. La numération cellulaire du lait	20
IV .2 2 modifications physico-chimiques du lait	20
IV.3. Diagnostic bactériologique :	21
CHAPITRE III : LES CELLULES DE LA SECRETION LACTEE (LAIT).	24
I. Les cellules.	24
I.1. Nature des cellules somatiques présentes.	24
I.1.1. Les cellules épithéliales	24
I.1.2. Les cellules leucocytaires	24
a. Les Polymorphonucléaires	24
b. Les Macrophages	26
c. Les Lymphocytes	26
I. 2. Répartition des populations cellulaires.	26
I.2.1. Hors infection	27
I.2.1.1. Près du vêlage	27
I.2.1.2. En début de lactation	27
I.2.1.3. En milieu de lactation	27
I.2.1.4. En fin de lactation	28
I.2.1.5. Durant le tarissement	28
I.2.2. Lors d'infection	28
I. 3. Rôle des cellules somatiques.	29
I.3.1. Défenses phagocytaires	29
I.3.1.1. Rôle des PMN	29
a. Recrutement	30
b. Oponisation	31
c. Activité bactéricide	32
d. Contrôle de l'activité	32
1.3.1.2.- Rôle des macrophages	33
I.3.2. Défenses non phagocytaires	33
II. Conséquences de la concentration en cellules somatiques.	33
II.1. Conséquences sur la production laitière	34
II.2. Conséquences sur la composition du lait	35
II.2.1. le lactose	35
II.2.2. La matière grasse	35

II.2.3. Les matières protéiques	36
II.2.3.1. Les protéines coagulables (caséines)	36
II.2.3.2. Les protéines solubles	37
II.2.4. Les Minéraux	37
III. Importance des concentrations cellulaires du lait	37
III.1. Sur le plan hygiénique et sanitaire.	37
III.1.1. Bactéries potentiellement pathogènes	37
III.1.1.1. Les staphylocoques	38
III.1.1.2. Les streptocoques	38
III.1.2. Résidus de produits du traitement	38
III.2. Sur le plan économique.	38
III.2.1- Pertes liées au paiement à la qualité	39
III.2.2- Pertes liées à la diminution de productivité	39
III.2.3. Pertes liées aux réformes	40
III.3. sur le plan génétique.	41
CHAPITRE IV :	42
I. Méthodes de mesure de la concentration en cellules somatiques.	42
I.1- Méthodes directes	42
I.1.1. Numération par microscopie	42
I.1.2. Numération par Coulter	42
I.1.3. Numération par Fossomatic	43
I.2- Méthodes indirectes	44
I.2.1. Le Californian Mastitis test	44
II. Méthodes statistiques d'étude des variations de la concentration en cellules somatiques.	45
III. Facteurs de variation de la concentration en cellules somatiques.	46
III.1. Facteurs liés au prélèvement et aux techniques de mesure	46
III.1.1. Effet de la fraction du lait prélevée	46
III.1.2. Variation diurnale (variation entre deux traites)	47
III.1.3. Effet de l'âge de l'échantillon	48
III.1.4. Conditions de température et de préservation de l'échantillon	49
III.1.4.1. Effet de la température sur l'échantillon	49
III.1.4.2. Effets des produits de conservation	49
III.1.4.3. Effet de la congélation	50
III.1.5. Techniques de mesure	50
III.2. Facteurs d'ordre physiologique (Hors infection)	50
III.2.1- CCS du lait de « génisses bactériologiquement négatives »	51
III.2.2.- CCS du lait de vaches bactériologiquement négatives	51
III.2.3.- Stade de lactation	52
III.2.4- Numéro de lactation (âge)	55
III.2.5. Effet de l'exercice physique	56
III.2.6. Effets génétiques	57
III.2.6.1. Les variations génétiques au sein d'une race	57
III.2.6.2. Variations entre races.	57
III.2.7. Fréquence de traite.	58
III.2.8. Effet "vache"	58
III.2.9. Effet des hormones	59

III.3. Facteurs liés à l'infection	59
III.3.1. Variations liées à l'infection bactérienne constatée	59
III.3.1.1. CCS du lait de génisses lors d'infection	59
III.3.1.2. CCS du lait de vaches infectées par un agent pathogène	
a. mineur	60
b. majeur	60
III.3.2. Variations liées aux facteurs de risque des infections	60
III.3.2.1 Variations liées aux facteurs de risque intrinsèques	61
III.3.2.2. Variations liées aux facteurs de risque extrinsèques	61
IV. Interprétation du CCS et utilisation pratique pour le dépistage des infections.	62
IV.1. Utilisation pratique des CCS	63
IV.2.1. Notion de seuil	63
IV.2.2. Détermination du CCS	64
IV.2.2.1. Lait d'un quartier	
IV.2.2.2. Lait de mélange des quatre quartiers	64
IV.2.2.3. Taux cellulaire de tank	64
1. Moyennes géométriques calculées sur 12 mois	66
2. Moyennes géométriques calculées sur 03 mois	66
3. L'interprétation du NCT.	67
PARTIE EXPERIMENTALE.	
1. OBJECTIFS	69
2. MATERIELS ET METHODES	71
3. RESULTATS	87
4. DISCUSSION	122
5. CONCLUSION	132
6. RECOMMANDATIONS	134
7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.	
8. ANNEXES.	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Conformation externe d'un pis de vache.

Figure 2 : Structure anatomique interne de la glande mammaire

Figure 3 : Organisation des lobules

Figure 4 : Organisation d'un alvéole

Figure 5 : Proportion moyenne des composants essentiels du lait de vache.

Figure 6 :

(a) : voies de transport des nutriments et des produits synthétisés, **(b)** : Lactocyte en activité

Figure 7 : Frottis sanguin montrant deux polynucléaires neutrophiles.

Figure 8 : Frottis sanguin montrant en (a) : un polynucléaire éosinophile et en (b) : un polynucléaire basophile

Figure 9 : Structure comparée des polymorphonucléaires neutrophiles du sang (A) et du lait (B)

Figure 10: Frottis sanguin montrant un monocyte.

Figure 11: Frottis sanguin montrant en (a) : un grand lymphocyte et en (b) : un petit lymphocyte

Figure 12 : Génération du premier signal inflammatoire et recrutement des PMN du sang vers la mamelle

Figure 13: Représentation schématique du parcours des polymorphonucléaires neutrophiles au lait à partir d'une veinule post capillaire

Figure 14: Reconnaissance et ingestion des bactéries par un PMN

Figure 15 : Composition du lait en fonction de son taux cellulaire

Figure 16 : Variation de la concentration en cellules somatiques (x1000.000) en fonction du moment d'échantillonnage

Figure 17 : Effet de l'âge de l'échantillon du lait sur la concentration en cellules somatiques en fonction de l'âge de l'animal

Figure 18 : Concentration moyenne en cellules somatiques de 10 échantillons stockés pendant 10 jours à température ambiante ou à 4° C

Figure 19: évolution des concentrations en cellules somatiques en fonction du stade de lactation chez des animaux domestiques sains

Figure 20 : Evolution de la concentration moyenne en cellules somatiques du lait de quartiers non infectés en fonction du numéro de lactation

Figure 21 : Evolution de la concentration moyenne en cellules somatiques en fonction de la marche

Figure 22: Evolution de la concentration en cellules somatiques du lait de vaches soumises à deux traites par jour ou à une seule traite par jour.

Figure 23 : Photographie et représentation schématique du Coulter counter modèle Z2 ,vue frontale.

Figure 24 : Photographie et représentation schématique du coulter counter modèle Z2 : vue dorsale.

Figure 25 : Emplacement des différents segments : tube à orifice, électrode, mélangeur, focus.

Figure 26 : Représentation schématique du principe de fonctionnement du COULTER

Figure 27: Représentation schématique du protocole de préparation des échantillons

Figure 28 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés et non infectés au cours du premier examen bactériologique.

Figure 29 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés selon les germes isolés au cours du premier examen bactériologique.

Figure 30 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés et non infectés au cours du deuxième examen bactériologique.

Figure 31 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés selon le germe isolé au cours du deuxième examen bactériologique.

Figure 32 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés et non infectés

Figure 33 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés selon les germes isolés au cours du troisième examen bactériologique.

Figure 34. Dynamique et Evolution des quartiers infectés au cours de l'étude.

Figure 35 : Histogramme représentant la distribution des pourcentages des taux cellulaires individuels de vache au cours de l'étude.

Figure 36. Evolution du taux cellulaire du lait de mélange au cours de l'étude.

Figure 37. Répartition des vaches en fonction de l'état d'infection et selon les germes impliqués au cours de l'étude.

Figure 38 : Evolution des taux cellulaires individuels des vaches non infectés (catégorie 1).

Figure 39 : Evolution des taux cellulaires individuels des vaches infectés brièvement (catégorie 2).

Figure 40: Evolution des taux cellulaires individuels des vaches infectés durablement (catégorie 4).

Figure 41 : Distribution des troupeaux en fonction des NCT moyennes.

Figure 42 : Evolution NCT des troupeaux des trois catégories durant la période de l'étude (a,b,c).

Figure 43 : Répartition des résultats de l'examen bactériologique.

Figure 44 : Répartition des germes isolés.

Figure 45: Evolution des pertes en lait en fonction des NCT mensuels.

Figure 46: Evolution du rapport C/MAT en fonction des NCT mensuels.

LISTES DES TABLEAUX

Tableau I : Valeur moyenne des différents minéraux du lait rapporté en mg/100 ml.

Tableau II : Relations entre sévérité, durée et origine des infections mammaires (d'après Le Roux , 1999).

Tableau III : Symptômes lors de mammites.

Tableau IV : Répartition des différentes populations cellulaires du lait en l'absence d'infection.

Tableau V : Pourcentage des différents types cellulaires chez des primipares en début de lactation.

Tableau VI : Relation entre le statut bactériologique du quartier et les différents types cellulaires du lait exprimés en pourcentages.

Tableau VII : Relation entre le score linéaire (LS), le CCI et les pertes en lait.

Tableau VIII: Variation de la composition en caséines de laits de tank en fonction de leurs concentrations cellulaires.

Tableau IX: Correspondance entre la note du CMT et la numération cellulaire du lait .

Tableau X : Variation de la concentration en cellules somatiques en fonction de la fraction de lait de quartier prélevée.

Tableau XI : Effet de l'âge de l'échantillon sur la concentration moyenne en cellules somatiques

Tableau XII : Concentrations en cellules somatiques avant et après congélation

Tableau XIII : Evolution de la concentration en cellules somatiques dans le lait en fonction du stade de lactation chez la vache bactériologiquement négatives.

Tableau XIV: Variation de la concentration en cellules somatiques en fonction du numéro de lactation chez les vaches bactériologiquement négatives

Tableau XV: Résultats du comptage cellulaire et du test CMT des échantillons de lait analysés.

Tableau XVI: Comparaison des valeurs obtenues par COULTER et CMT

Tableau XVII: Résultats de l'analyse des variances.

Tableau XVIII : Répartition du cheptel expérimental

Tableau XIX : Répartition des quartiers en fonction de l'état d'infection et germes isolés lors du premier examen bactériologique.

Tableau XX : Répartition des vaches selon le nombre de quartiers infectés et germes isolés.

Tableau XXI : Répartition des quartiers en fonction de l'état d'infection et germes isolés lors du deuxième examen bactériologique

Tableau XXII : Répartition des vaches selon le nombre de quartiers infectés et germes isolés.

Tableau XXIII : Répartition des quartiers en fonction de l'état d'infection et germes isolés lors du troisième examen bactériologique.

Tableau XXIV : Répartition des vaches selon le nombre de quartiers infectés et germes isolés.

Tableau XXV : Répartition des valeurs du taux cellulaire individuel de vache au cours de l'étude.

Tableau XXVI : Répartition des valeurs du taux cellulaire des laits de mélange.

Tableau XXVII : Répartition des vaches selon leurs états d'infection au cours de l'étude

Tableau XXVIII : Répartition des vaches selon le nombre des quartiers infectés durablement et des germes isolés.

Tableau XXIX : Répartition des taux cellulaires moyens en fonction de l'état d'infection des vaches au cours de l'étude.

Tableau XXX : Répartition des taux cellulaires moyens en fonction des germes isolés au cours de l'étude

Tableau XXXI : Répartition des taux cellulaires pour les différents états d'infection

Tableau XXXII : Répartition des taux cellulaires des vaches par rapport aux seuils déterminés.

Tableau XXXIII : Répartition des séries de taux cellulaires individuels en fonction de l'état d'infection des vaches

Tableau XXXIV : Répartition des vaches par rapport aux règles de décision de Serieys en fonction de leur état d'infection.

Tableau XXXV : Renseignements relatifs aux troupeaux de l'étude.

Tableau XXXVI : Numérations cellulaires mensuelles de Tank.

Tableau XXXVII : Résultats de l'analyse bactériologique.

Tableau XXXVIII : Valeurs obtenues pour la perte en lait par troupeau.

Tableau XXXIX : Valeurs du rapport C/MAT (en %) estimées en fonction des NCT.

Tableau XXXX : Pertes en matière grasse (g/l).

ANNEXES

ANNEXE 1 : Composition des solutions de fixation et d'émulsifiant.

ANNEXE 2 : Fiches des résultats du comptage par COULTER COUNTER.

LISTE DES ABREVIATIONS

AD : antérieur droit
AG : antérieur gauche.
Ag : antigène.
AN : azote non protéique
BA : brune d'Alpes.
BSA : sérum bovine albumine
Ca⁺⁺: calcium.
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité.
CCI : concentration ou comptage cellulaire individuel.
CCIQ: concentration ou comptage cellulaire individuel de quartier.
CCS : concentration ou comptage cellulaire en cellules somatique.
Cl : chlore
CMT: Californian Mastitis Test
C14: acides gras à chaîne courte
C16 : acides gras à longue chaîne
FIL : Fédération Internationale des Laiteries
FP:faux positive
FN: faux négative
K⁺ : potassium
IG : imminoglobulines
Na⁺⁺ : sodium
NCT:Numération cellulaire de tank
ND : non déterminé
P : phosphore
PD : postérieur droit
PG : postérieur gauche
PMN : polymorphonucléaire neutrophile
PN : pie noire
PR : pie rouge.
S. aureus : *Staphylococcus aureus*.
S : soufre
Se : sensibilité.
SP : spécificité.
SNC: *Staphylococcus coagulase négatif*.
St. : *Streptococcus*

RESUME :

La concentration cellulaire du lait en cellules somatiques constitue a priori le seul témoin d'inflammation utilisé à l'heure actuelle pour le dépistage des infections mammaires.

Dans ce cadre, nous avons procédé à l'essai d'utilisation d'une méthode de concentration cellulaire directe d'application nouvel en Algérie au moyen du « COULTER COUNTER». IL a été réaliser l'étalonnage de l'appareil dans un premier temps, puis une évaluation des performances par détermination de la fiabilité et de la répétabilité des résultats obtenus sur des échantillon de lait de quartier tester au préalable par le CMT (californian mastitis test).

Les résultats ont montré une bonne corrélation ($=1,0$) entre les deux méthodes de comptage. La répétabilité des résultats non pas dépasser le seuil de 5%(4,55%,0,21%, 0,14%) pour les concentration cellulaire inférieur à 264500 et comprise entre 290000 et 822000 et supérieur à 857 800 cellules /ml.

Une application de cette méthode de comptage pour le lait individuel de vache à été réaliser sur 42 vaches en lactation dans un deuxième temps. Les résultats ont montré que les seuils de 300000 et 800000 permettent une meilleure ségrégation entre les vaches infectées et non infectées durablement par un pathogène majeur. Le diagnostic à partir d'un seul taux à révéler une faible spécificité (0,39) par contre le diagnostic à partir d'une série de taux à permis une bonne sensibilité et spécificité (1,0 et 0,77 respectivement).

En fin, un comptage cellulaire pour le lait du tank et une évaluation des pertes qualitatives et quantitatives ont été réalisé pour un échantillon de 22 élevages. Les résultats ont révéler que 86% des élevages ont une concentration cellulaire supérieure à 4000000 cellules /ml. Les pertes occasionnées par l'élévation de la concentration cellulaire sont estimées quantitativement à 10,26% et de 1,83% et 0,73 g/l pour la matière protéique et la matière grasse respectivement.

PROBLEMATIQUE :

Le secteur lait a une importance capitale dans l'économie agricole. Il représente une priorité du pays et rentre dans le cadre général de la mise à niveau de l'agriculture avec pour souci d'arriver à une autosuffisance.

La production laitière nationale est assurée essentiellement par un cheptel bovin de 1 675 000 têtes assurant 56% de la production globale, le reste étant assuré par la production caprine, ovine et à moindre degré cameline.

La demande en lait et en produits laitiers n'a pas cessé d'augmenter durant ces deux dernières décennies. En effet, l'Algérie consomme environ 3,3 milliards de litres/an, équivalent à 110 litres / habitant / an. Cependant, notre production ne couvre que 39% des besoins, le reste étant importé pour une valeur globale évaluée à 500 millions de dollars (Ferrah, 2000).

Devant, la faiblesse structurelle de l'élevage bovin laitier, malgré les progrès de l'état, depuis les années 70, fondés essentiellement sur l'importation de races bovines à haut potentiel génétique, une nouvelle politique de réhabilitation de la production laitière a été initiée depuis 1995 et intégrée par la suite en 1999 - 2000 dans un plan national de développement agricole (PNDA), dont les principaux axes s'articulent autour de :

- La promotion de l'investissement à l'exploitation.
- L'aide portant sur les prix du lait à la production, l'activité de collecte et la livraison aux industries laitières.
- Création de mini laiteries.
- Généralisation de l'insémination artificielle.
- Production de reproducteurs.(génisses).

Parmi les facteurs limitant la production laitière nationale, hors l'alimentation, les problèmes sanitaires et particulièrement, les mammites sont les plus importants. Et sont ceux qui, par leurs fréquences et leurs conséquences biologiques en font la maladie la plus coûteuse chez les bovins.

A travers le monde, les fédérations laitières ont instauré différentes méthodes de contrôle des mammites. Les essais d'utilisation des substances stimulants l'immunité non spécifique des animaux et les tentatives de vaccinations se sont avérés décevants jusqu'à présent (Rupp., 2000). La prophylaxie médico- sanitaire visant à traiter les animaux infectés et à limiter les facteurs de risque liés aux conditions du milieu, constitue pour l'instant, le meilleur, voire le seul moyen de maîtrise des mammites dans les exploitations laitières.

La mesure de la concentration cellulaire du lait représente à priori le seul témoin d'inflammation traduisant les infections mammaires qui permet à l'heure actuelle de diagnostiquer les animaux et les troupeaux infectés. Cette mesure, automatisable à coût limité dans le cadre du contrôle laitier par les laiteries est largement utilisée pour un double intérêt :

- Le paiement du lait à la qualité pris en considération par la réglementation,
- Le dépistage des mammites dans les élevages.

Hors, en Algérie on n'applique pas ce type de contrôle et on ne dispose d'aucune méthode de mesure de la concentration cellulaire aux normes algériennes.

L'intérêt de cette étude s'inscrit dans un contexte d'essai d'utilisation d'une méthode de mesure de la concentration cellulaire directe et son application pour prospecter et dépister les infections mammaires dans nos élevages laitiers.

INTRODUCTION :

La mammite se définit comme une inflammation de la glande mammaire. Physiologiquement c'est une réaction de défense contre une agression locale, d'origine infectieuse dans la plupart des cas (Poutrel, 1985).

Les infections intra mammaires (IIM) à l'origine des mammites demeurent une dominante pathologique dans les élevages bovins laitiers avec une incidence annuelle oscillant entre 20 et 50% (Bareille, 1998).

Les infections les plus sévères se traduisent par une inflammation importante et des signes visibles et sont dénommées mammites cliniques tandis que d'autres, les mammites subcliniques sont totalement imprévisibles.

Cette inflammation, qu'elle soit accompagnée ou non de signes cliniques se traduit toujours par un afflux massif de cellules effectrices du système immunitaire, leucocytes du sang vers la mamelle. Ces leucocytes constituent, avec les cellules épithéliales issues de la glande mammaire, ce qu'on appelle communément les cellules somatiques du lait.

La connaissance de la teneur en cellules somatiques du lait revêt une importance à plusieurs titres :

- Elle est considérée comme un indicateur de santé du ou des 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.
- Elle sert de critère d'évaluation de la qualité hygiénique du lait, en particulier, la présence de bactéries pathogènes pour l'homme ou de résidus d'antibiotiques qui constituent une préoccupation majeure des consommateurs et surtout de la filière laitière.

Plusieurs facteurs peuvent influencer cette teneur en cellules qui semblent être liés aux techniques de prélèvement et aux méthodes de mesure, comme elle peuvent être sujette à des variations d'ordre physiologique ou à une irrégularité en cas d'infection constatée.

Toutefois, le nombre des cellules dépend principalement du statut infectieux de la glande mammaire et une interprétation pertinente des valeurs de la concentration cellulaire pour la détection des vaches ou des troupeaux infectés dans un contexte de régie nécessite l'analyse d'une série de résultats et la connaissance des facteurs de variations et l'interaction entre elles.

La présente revue bibliographique relate l'état des connaissances et des rappels sur la glande mammaire, la mammite, les cellules somatiques, leur conséquence et leur importance dans un premier temps. Les différentes méthodes de mesure de la concentration en cellules somatiques seront succinctement décrites dans un deuxième temps. Les facteurs de variations de la concentration en cellules somatiques et leur utilisation pour le dépistage des infections mammaire seront ensuite détaillés.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : RAPPELS ANATOMO- PHYSIOLOGIQUE DE LA GLANDE MAMMAIRE

La mamelle est une structure glandulaire à sécrétion externe, particulière de toutes les femelles de la classe des mammifères. Elle se caractérise par la production de deux sécrétions différentes, le colostrum et le lait, qui sont indispensables à la survie de la descendance de ces espèces.

Sous la forme de paires de glande isolées, distribuées et positionnées symétriquement le long du cordon mammaire, elles sont variables d'une espèce à l'autre en nombre :

- deux, chez la chèvre, la brebis et la jument,
- quatre, chez la vache.

La variabilité individuelle d'aptitude laitière a permis de sélectionner les animaux, ayant les performances les plus élevées, où l'espèce bovine présente le niveau de production le plus élevé.

I.1- Anatomie de la glande mammaire :

I.1.1- Structure anatomique externe (conformation externe):

La vache possède deux paires de mamelles inguinales appelés aussi quartiers dont deux antérieurs et deux postérieurs, qui se prolongent chacun par un trayon (Cf. figure 1).

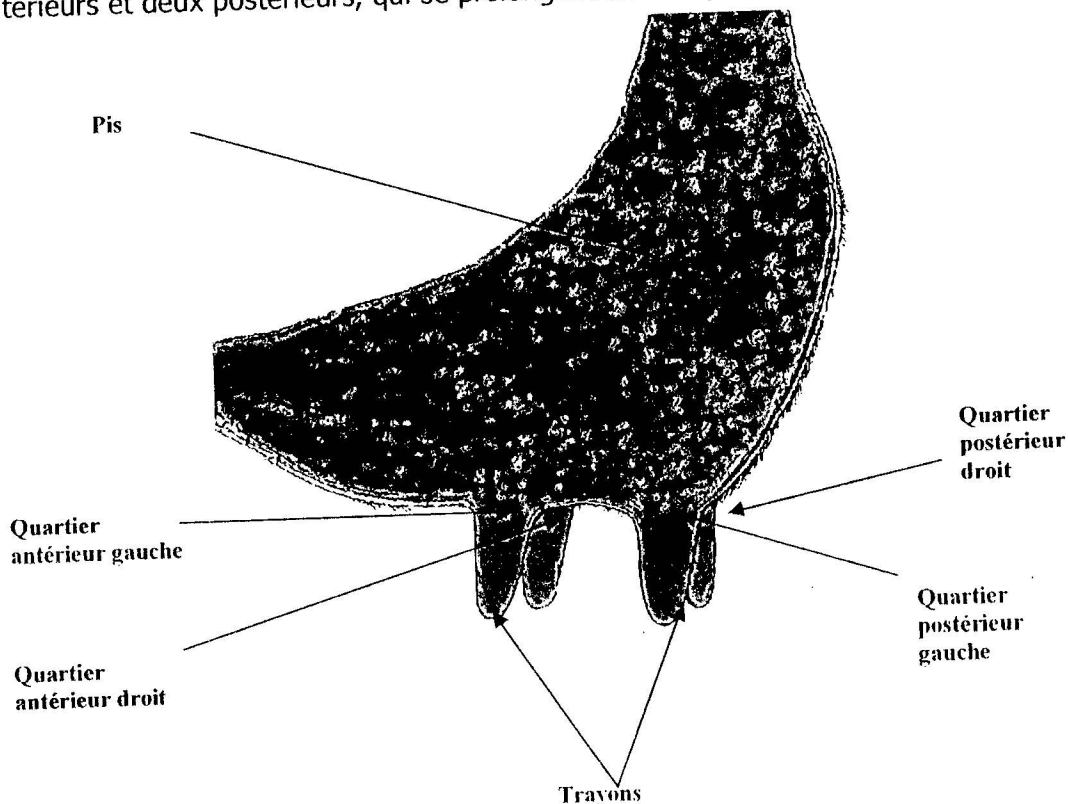


Figure 1 : Conformation externe d'un pis de vache.

Les quatre mamelles sont réunies extérieurement en une masse hémisphérique lourde et volumineuse appelée pis, solidement attaché par un puissant système de suspension.

Ce système est formé par un ligament médian de fixation et par des ligaments latéraux de support (profonds et superficiels) qui les attachent à la paroi abdominale et au bassin (Dosogne et al, 2000). Cet ensemble peut, chez la vache adulte, peser plus de 50 kgs. Les dimensions du pis peuvent être prises comme indicateur du niveau de production laitière chez une multipare. Cependant, ce n'est pas le cas chez la primipare, car il continue à croître pendant la première lactation.

Avec le progrès génétique, le pis est mieux balancé et sa production est équilibrée alors qu'initialement, les quartiers postérieurs produisaient 60 % et les antérieurs 40% du lait (Hanzen, 2000).

I.1.2- Structure anatomique interne (histologie):

Chacune des mamelles constitue une entité fonctionnelle indépendante, sans communication entre les tissus sécrétoires et les systèmes canaliculaires des mamelles adjacentes (Dosogne et al., 2000). La répartition est anatomiquement bien définie entre les moitiés gauches et droites, individualisées par le ligament suspenseur médian du pis. Bien que moins évidente, la séparation des quartiers antérieurs et postérieurs, n'en est pas moins complète et est composée d'un fin et régulier septum de tissu conjonctif.

Chaque mamelle ou quartier comprend, outre la peau et la charpente fibro-élastique, un parenchyme glandulaire de structure complexe (Cf. figure 2) :

- Un tissu tubulo-alvéolaire
- Un tissu de soutien.

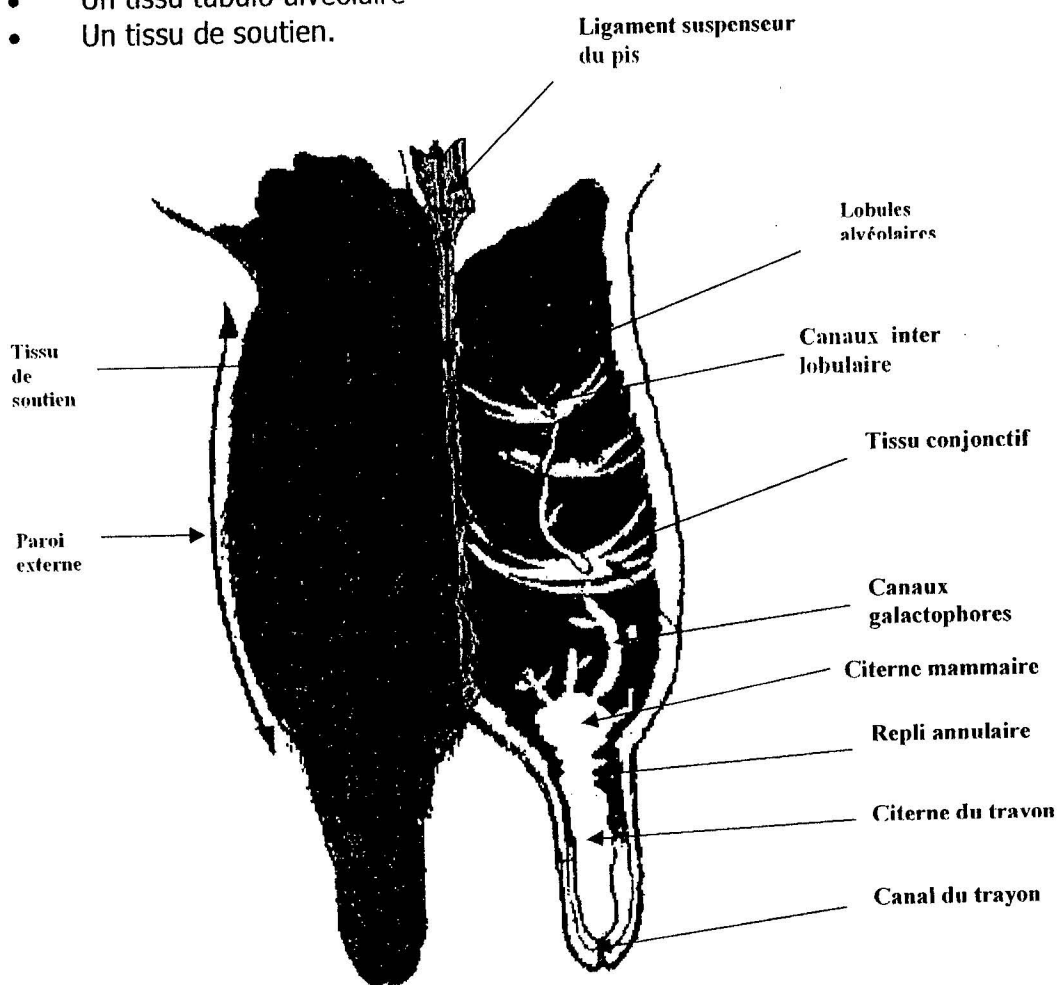


Figure 2 : Structure anatomique interne de la glande mammaire (d'après Jammes et al, 1988)

I.1.2.1. Tissu tubulo-alvéolaire :

Les acini sont les unités structurales du tissu tubulo-alvéolaire et productrices de la mamelle (Cf. figure 3).

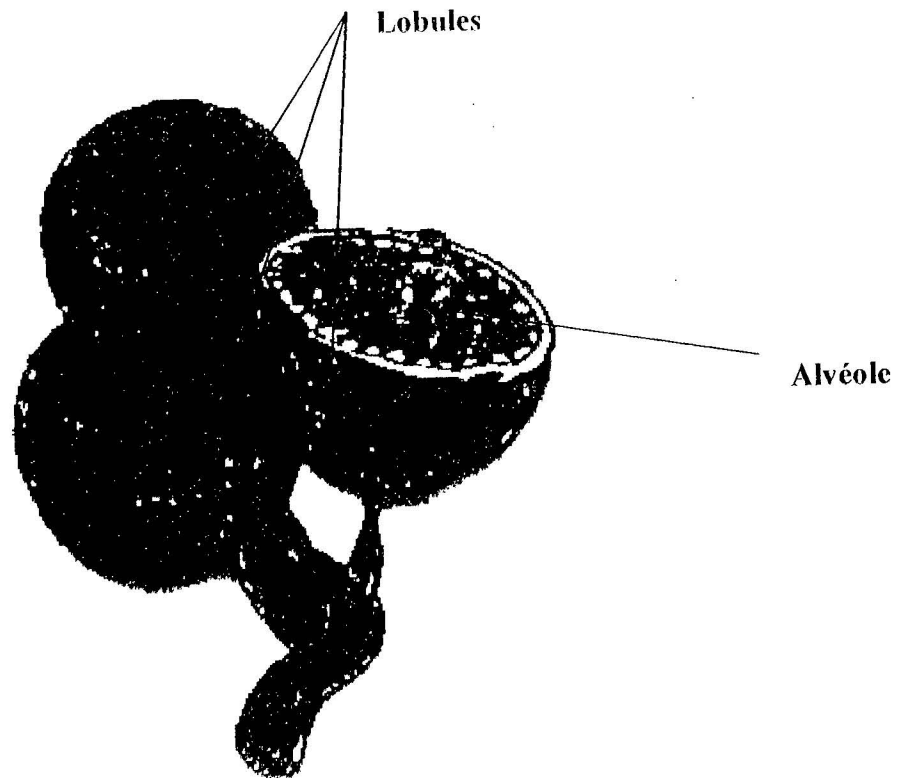


Figure 3 : Organisation des lobules (d'après Jammes et al, 1988).

I.1.2.1.1. Alvéole (acinus):

Elles ont la forme de petites poches regroupées en lobules, eux même organisées en lobes. Chaque acinus est constitué d'une couche monocellulaire appelée lactocyte, reposant sur une lame basale et entourant une lumière alvéolaire. Cette couche cellulaire ne présente pas les mêmes caractéristiques morphologiques quand elles sont au repos **(1)** ou en activité **(2)** (Barone, 1990) Ceci est dû aux modifications du stade fonctionnel de la glande.

(1) Au repos : L'épithélium est pavimenteux avec des jonctions serrées, rares, lâches et perméables. Le lactocyte présente un noyau centré et un cytoplasme peu important. Dans cet état, la cellule a la capacité de se multiplier. Cette faculté est utilisée pour la régénération de la glande mammaire en période de tarissement.

(2) En activité : L'épithélium prend un aspect cubique ou prismatique avec jonctions serrées, plus nombreuses et plus efficaces, assurant une parfaite étanchéité aux espaces inter-cellulaires (Brouillet, 1998 ; Oliver-Bousquet, 1993 ; Stelwagen-Lacy Hulbert, 1996). La taille des lactocytes augmente considérablement, le noyau est rejeté près de la lame basale et au coté opposé, apparaissent dans le cytoplasme, des vacuoles et des inclusions lipidiques. Le réticulum endoplasmique et l'appareil de golgi sont particulièrement développés (Dosogne et al., 2000).

Extérieurement, l'alvéole est entouré d'un fin réseau de cellules myoépithéliales étoilées dont la contraction induite par une décharge d'ocytocine, provoquerait la vidange des lobules participant à l'expulsion du lait (Brouillet, 1998 ; Deluis, 1983 ; Jammes et al., 1988).

Ce réseau est aussi entouré d'un maillage très dense de fins capillaires artériels, veineux et lymphatiques, et séparés les uns des autres par des faisceaux conjonctifs et du tissu graisseux (Cf. figure 4).

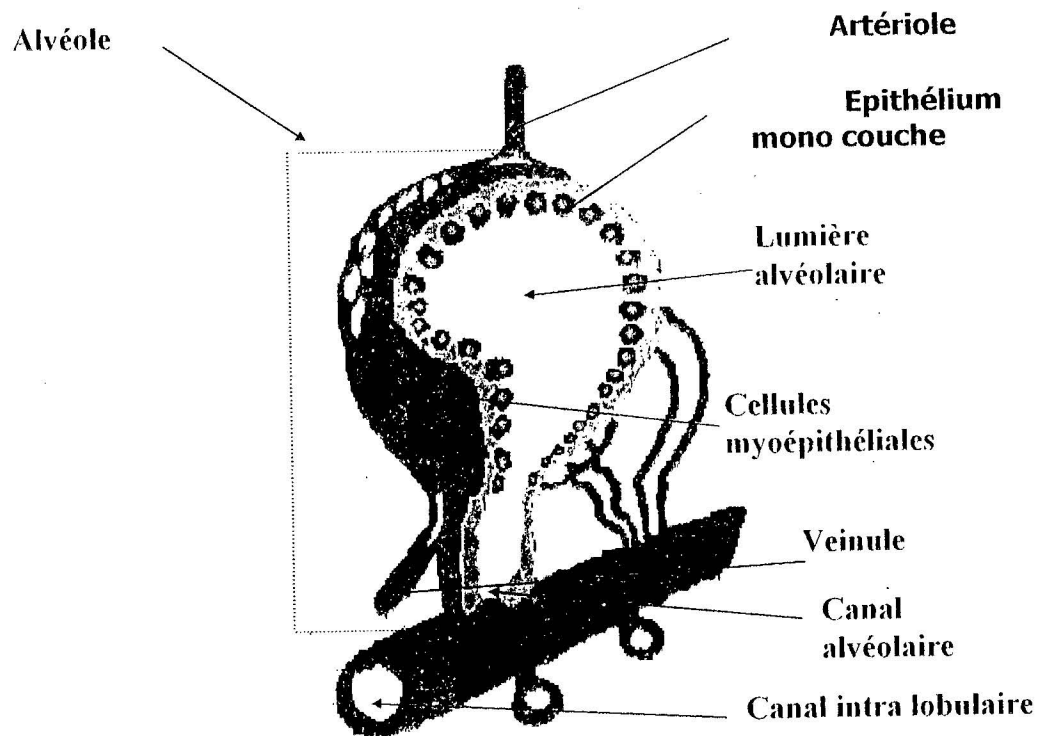


Figure 4 : Organisation d'un alvéole (d'après Jammes et al, 1988).

I.1.2.1.2. Tubules (canaux, sinus):

Ils apparaissent sous la forme d'un complexe - arborisation assurant les fonctions d'écoulement, de stockage et d'éjection du lait.

La sécrétion lactée sort des acini par des petits pertuis ouverts dans des canalicules. Ces derniers sont d'abord intra-lobulaire, puis intra-lobaire et se terminent par cinq à huit canaux galactophores dans un seul et unique sinus lactifère de taille variable.

Ce sinus (citerne) est divisé en deux parties :

- sinus mammaire,
- sinus du trayon.

Ces deux parties sont séparées l'un de l'autre par un repli annulaire appelé anneau veineux de Fürstenberg.

Le sinus du trayon se termine dans un repli muqueux, la rosette de Fürstenberg qui constitue en cas d'infection, le principal point de passage des leucocytes du sang vers le lait. Il se termine par un court conduit papillaire s'ouvrant à l'extérieur, le canal du trayon dont la longueur est inférieure à 1,5 cm. Ce dernier constitue la première ligne de défense contre les infections mammaires. Il est tapissé d'un épiderme kératinisé semblable à celui de la peau. Sa fermeture est assurée par un puissant sphincter (Dosogne et al., 2000).

I. 1 .2 .2. Tissu de soutien:

Il est aussi appelé stroma et est constitué de :

- tissu conjonctif (1),
- tissu adipeux (2),

- système vasculaire **(3)**,
- système d'innervation **(4)**.

(1). Tissu conjonctif :

Il est formé essentiellement de fibrocytes et de fibres de collagène.

(2). Tissu adipeux :

Il est constitué de nombreux adipocytes dont le nombre est très largement influencé par le régime alimentaire, durant la croissance des génisses, qui lorsqu'il est excédentaire peuvent envahir la glande mammaire, réduisant ainsi le nombre de lactocytes et limiter la future production de l'animal (Capuco, 1995).

(3). Système vasculaire :

L'irrigation de la glande mammaire, particulièrement importante, est assurée par un système :

- vasculaire artériel **(a)**,
- vasculaire veineux **(b)**,
- lymphatique **(c)**.

(a). Le système vasculaire artériel :

Il est composé essentiellement par :

- une artère honteuse externe,
- quelques petits rameaux issus de l'artère honteuse interne.

(b). Le système vasculaire veineux :

Il est plus développé que le réseau artériel, et schématiquement, il peut être représenté par un système à trois étages dont le niveau :

- inférieur, constitué par un cercle veineux drainant le sang de la veine mammaire craniale, veine mammaire moyenne (honteuse externe) et la veine mammaire caudale,
- médian, qui draine le sang des veines péri-sinusales, du parenchyme mammaire,
- supérieur, présenté par les gros collecteurs de la base du pis formant le cercle veineux du pis.

En effet, les deux systèmes, artériel et veineux, donnent des ramifications et des anastomoses qui viennent englober le tissu tubulo-alvéolaire permettant l'acheminement d'un important débit sanguin (300 à 500 litres de sang par mamelle). Outre l'apport de nutriments acheminés aux lactocytes, le sang charrie les hormones qui contrôlent le développement des mamelles, la synthèse et l'éjection du lait ainsi que la régénération des lactocytes (Dosogne et al., 2000).

(c). Le système lymphatique :

Ce type de vascularisation permet de restituer, à la circulation sanguine, le liquide de l'espace interstitiel, la lymphe qui est un fluide corporel dérivé du sang par filtration capillaire. Elle participe à la lutte contre les infections et joue un rôle important dans l'équilibre des fluides (Dosogne et al., 2000).

Il est constitué de vaisseaux :

- sous la peau, qui s'élève depuis le trayon jusqu'à la base du pis,
- plus profond, qui collecte les lymphatiques du parenchyme.

Ces vaisseaux forment un réseau, sous cutané, situé à la base du pis, collectant l'ensemble de la lymphe mammaire. De ce dernier, se détachent de gros vaisseaux, qui gagnent les ganglions

lymphatiques rétro-mammaires, servant à purifier la lymphe et l'enrichir en leucocytes. D'autres suivent le trajet inguinal et gagnent le lymphocentre ilio-fémorale.

(4). Le système d'innervation :

La majeure partie des terminaisons nerveuses, qui logent le parenchyme mammaire sont issues des nerfs mammaires, représentés par les fibres sensibles cérébro-spinales et les fibres motrices sympathiques. Il n'y a pas de fibres motrices cérébro-spinales, ni d'innervation parasympathique dans le pis.

I.2. FONCTIONNEMENT ET MECANISME DE SYNTHÈSE DE LA GLANDE MAMMAIRE :

La capacité de production laitière d'un animal dépend essentiellement du nombre de lactocytes de la glande mais également de sa capacité de synthèse et de sécrétion (Flower et al, 1990). Ce nombre, génétiquement dépendant, est variable d'un animal à l'autre. Plus le nombre est important, plus la production de lait le sera également (Brouillet, 1998 ; Jammes et al., 1988 ; Rulquin, 1997).

Par conséquent, l'entrée en fonction de ces cellules correspond à la mise en place de la lactation et l'achèvement de celle-ci se fait lors du tarissement (Dosogne et al., 2000).

I.2.1. La Lactation :

C'est la phase finale du cycle de reproduction de la vache d'une durée moyenne de 305 jours. La sécrétion lactée est caractérisée par la succession de deux périodes :

- Le déclenchement appelé la lactogénèse,
- L'entretien appelé la galactopoièse.

Ces deux périodes sont soumises, à l'action contrôlée de différentes hormones (progestérone, oestrogène, prolactine, corticoïdes.....)

I.2.1.1. La lactogénèse :

Elle commence bien avant le vêlage et consiste essentiellement en des modifications biochimiques et cytologiques qui se superposent à la colostrogénèse (Dosogne et al., 2000).

En fait, durant la colostrogénèse, les cellules alvéolaires qui se sont multipliées et différenciées (mammogénèse) 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 de la sécrétion lactée. Elle permet, dans un premier stade, la formation d'un fluide pré-colostrale (colostrogénèse lente) et dans un deuxième stade, une production abondante de colostrum, juste au pré-partum qui persiste jusqu'à quelques jours après le vêlage (colostrogénèse rapide) (Hartmann, 1973 ; Flee et al., 1975).

I.2.1.2. La galactopoièse :

Elle fait immédiatement suite à la lactogénèse et 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). En effet, les mécanismes d'absorption, de synthèse et de sécrétion des différents composants de cette excrétion, sont soumis à des phénomènes de régulation complexes (neuro-endocrinienne, hormonale, génétique, métabolique et alimentaire), faisant aussi intervenir un rétrocontrôle de la lumière de l'acinus (Rulquin, 1997).

Seule la composition, des deux sécrétions lactées (lait et colostrum), sera décrite ici ainsi que les différents mécanismes d'absorption, de synthèse et de sécrétion de leurs principaux constituants.

I.2.1.2.1. Le lait :

Le lait est un fluide biologique de composition très complexe qui est constitué essentiellement d'eau, de glucides (lactose), de protéines, de lipides et de sels dont les proportions diffèrent selon les espèces et les races (Cf figure 5).

- Eau : 87,5%
- Glucides : 4,5%
- Lipides : 4%
- Protides : 3%
- Sels minéraux : 1%

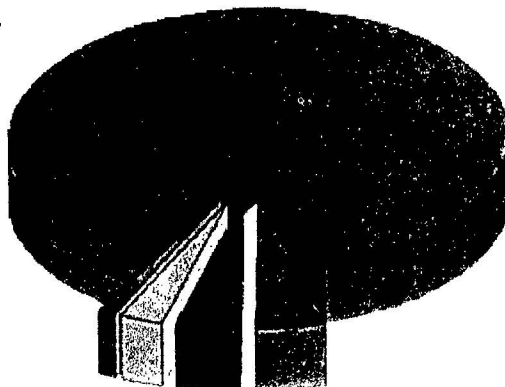


Figure 5 : Proportion moyenne des composants essentiels du lait de vache.

Secondairement, on peut retrouver quelques bactéries, des cellules somatiques (partie qui sera détaillée dans le chapitre II) ainsi que divers produits témoins de leur métabolismes (Dosogne et al., 2000)

La majeure partie de ces composants sont élaborés à partir des métabolites, prélevés dans le sang, dont les voies et les mécanismes de transport font intervenir (Oliver-Bousquet, 1997) (Cf. figure 6) :

- une diffusion plus ou moins facilitée (glucose, acides aminés ...),
- une endocytose (immunoglobuline, albumine, transferrine sérique et hormones),
- une transcytose,
- une exocytose.

Ceci, selon deux modalités, en l'occurrence, la filtration sélective **(1)** et la synthèse **(2)**.

- 1) La filtration sélective permet le passage sans transformation, de certaines protéines sériques, l'albumine et les globulines, l'azote non protéique, les acides gras à chaînes longues (C_{18}), certains acides gras à chaîne moyenne (C_{14} et C_{16}), les sels minéraux (Ca^{++} , K^+ , Na^{++} , Cl^+), les oligo-éléments, les enzymes et les vitamines.
- 2) La synthèse concerne trois constituants principaux : le lactose, les matières grasses et les protéines.

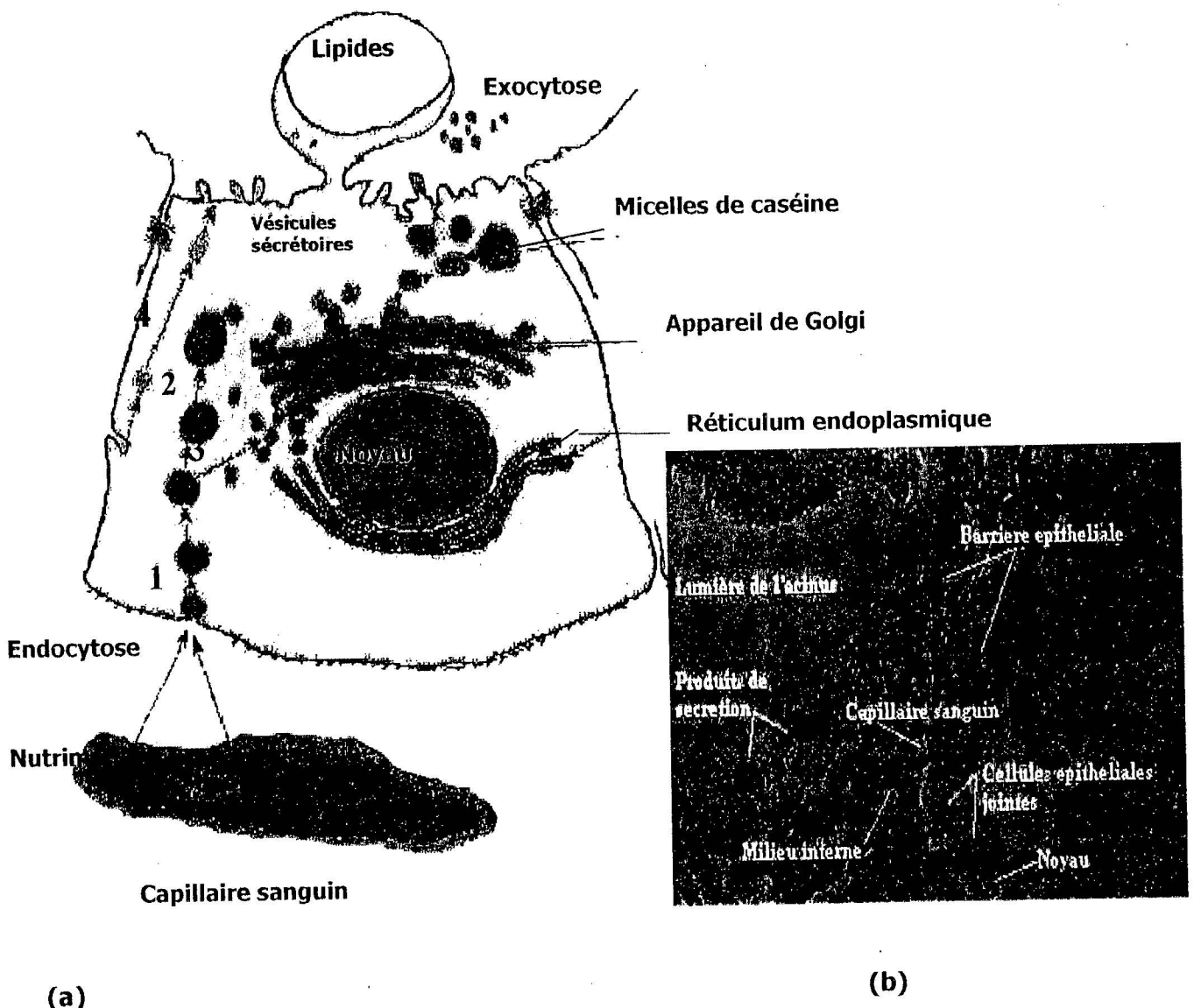


Figure 6 : (a) : voies de transport des nutriments et des produits synthétisés, (b) : Lactocyte en activité (d'après Oliver-Bousquet, 1997).

Légende : 1 : Transport dans les endosomes, 2 : Transport vers les lysosomes, 3 : Transport vers l'appareil de Golgi, 4 : Transcytose vers la membrane apicale.

a- Composition chimique :

Le lactose, les lipides, les protéines et les minéraux constituent les éléments essentiels de la sécrétion lactée.

1. Le lactose :

C'est le sucre spécifique du lait et le déterminant clef de la quantité de lait produite par la mamelle. Sa teneur varie entre 4,5% à 5%. Il est constitué à part égale de glucose et de galactose (Hanzen, 2000). Synthétisé au niveau du réticulum endoplasmique, il transite par l'appareil de golgi où il est rassemblé dans des vacuoles et déversé dans la lumière alvéolaire par exocytose (Le Page, 1999).

Son excrétion augmente la concentration des substances dissoutes dans la lumière alvéolaire et par conséquent la pression osmotique. Pour rétablir l'équilibre osmotique, de chaque côté de la

membrane cellulaire sécrétrice, l'eau suit le gradient osmotique vers l'alvéole. Cet équilibre est atteint à partir de 4,5% de lactose dans le lait. Ainsi donc, sa synthèse détermine le volume d'eau nécessaire, donc la quantité de lait à sécréter (Soulhier et al, 1997).

Le déficit d'apport en lactose ou la lésion de la cellule sécrétoire (cas de mammite) sont de nature à réduire la concentration de lactose dans le lait et par conséquent la baisse de production (Hanzen., 2000).

2. Les lipides (matière grasse) :

La teneur en matière grasse du lait varie selon les espèces et même selon les races chez la vache. Elle est de l'ordre de 3 à 5%, dispersée sous forme de globules gras dont la taille moyenne est de 3 à 5 microns totalisant environ 10 milliards de particules par ml de lait. La particule de globule gras se compose d'une goutte de lipide centrale et d'une membrane périphérique. Elle est composée, essentiellement, par des triglycérides (96% à 98%) et le reste est représenté par des phospholipides participant à la structure lipoprotéique de la membrane. Leur synthèse se fait à partir du glucose et des acides gras (Hanzen,2000).

D'un point de vue origine qui varie en fonction de leur nature, 50 % proviennent du sang et 50% par synthèse mammaire (Deluis et Richard, 1991).

Les acides gras :

- Courts, proviennent de la synthèse mammaire tandis que les longs sont prélevés dans le sang, à partir de l'alimentation ou de la lipolyse corporelle (lipolyse des tissus adipeux de réserve).
- Moyens sont d'origine, soit mammaire, soit alimentaire ou corporelle.

Une fois synthétisés, dans l'appareil de golgi, les acides gras fusionnent en gouttelettes lipidiques dont la taille augmente de façon croissante jusqu'à leur exocytose vers la lumière alvéolaire, tout en empruntant une partie de la membrane cellulaire. Il s'agit donc, d'une sécrétion de type mérocrine (LE PAGE, 1999).

3. Les protéines :

Les protéines totales du lait, dont la teneur moyenne varie de 2,8 à 4,5 % avec une valeur moyenne de 3,35 %, sont constituées (Hanzen, 2000) :

- d'une fraction d'azote non protéique (ANP) **(1)**,
- de matière azoté protéique ou protéines vraies **(2)**.

Le taux de protéines vraies baisse de 0,12 à 0,29 % par rapport aux totales.

3.1. L'azote non protéique :

Il est constitué essentiellement, de l'urée (33 à 79 % de l'azote non protéique du lait). On y trouve aussi les acides aminés dont les principaux sont l'acide urique, l'ammoniaque et la créatinine. L'augmentation de sa teneur à plus de 5,9 % est due principalement à un excès d'apport alimentaire azoté, combiné ou non avec une insuffisance énergétique glucidique. Elle peut également être associée à une infection mammaire.

3.2. Les protéines vraies :

C'est la fraction la plus importante (93 à 95%) qui se différencie de l'ANP par la grosseur de leurs molécules (Hanzen, 2000).

Elles sont présentes, sous deux phases :

- L'une micellaire, insoluble instable, constituée essentiellement de caséines (ou protéines majeures) donnant au lait son aspect blanc opaque,
- L'autre soluble, stable, constituée des protéines sériques appelées aussi protéines du lactosérum (ou protéines mineures).

3.2.1. Les caséines :

Elles constituent les protéines spécifiques du lait et représentent 78 à 80 % des protéines totales.

Elles sont composées d'environ deux cent acides aminés et se différencient en:

- α - S₁ (38%),
- α - S₂ (12 %),
- β - caséines (35%), constituées d'un segment gamma,
- κ - caséines (15%).

3.2.2. Les protéines sériques :

Elles sont au nombre de quatre :

- la β -lactoglobuline (60%),
- l' α -lactalbumine (20%),
- l'albumine sérique (7%)
- les immunoglobulines (13%).

La β -lactoglobuline est présente dans le lait de la vache, de la truie mais pas de la jument. Son rôle est peu connu. Elle servirait d'apport protéique complémentaire pour le nouveau-né.

L' α -lactalbumine est un des composants de la lactose-synthétase et, à ce titre, joue un rôle essentiel dans la synthèse du lactose.

L'albumine sérique (BSA) est un bon indicateur de l'état inflammatoire de la mamelle.

A l'exception de l'albumine et des immunoglobulines qui proviennent directement du sang, les autres protéines du lait sont synthétisées par les cellules mammaires à partir des acides aminés apportés par l'alimentation, ou synthétisés localement (Hanzen, 2000) :

Synthétisées au contact des ribosomes, les protéines doivent transiter par le réticulum endoplasmique vers l'appareil de golgi ou elles sont rassemblées dans des vésicules avec du lactose et de l'eau (Brouillet, 1998), puis migrer vers la paroi apicale et déverser leur contenu par exocytose.

4- Les minéraux :

Le lait contient des sels à l'état dissous (molécules et ions) et à l'état colloïdal. Ils sont essentiellement d'origine minérale (Cf. tableau I).

Tableau I : Valeur moyenne des différents minéraux du lait rapporté en mg/100 ml.

K	Ca	Cl	P	Na	S	Mg
141	123	119	95	58	30	12

K: potassium, Ca: calcium, Cl: chlore, P: phosphore, Na: sodium, S: soufre, Mg: magnesium.

Le calcium et le phosphore sont les deux éléments fondamentaux de la structure de la micelle caséique. Ils sont, avec le magnésium, responsables de la stabilisation de cette dernière.

Les ions potassium, sodium et chlore réalisent avec le lactose, l'équilibre de pression osmotique du lait dans la mamelle vis à vis de la pression sanguine. Ils subissent des variations importantes en cas d'infection mammaire (Hanzen, 2000).

b. Composition bactériologique :

Le lait obtenu lors d'une traite n'est pas un produit stérile. A l'état normal, il existe une certaine quantité de micro-organismes, essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores.

Ils sont de natures diverses : bactéries, levures et moisissures. Cette diversité dépend de l'environnement, des conditions de production et de l'hygiène de la traite.

Les bactéries, généralement, majoritaire de la flore totale peuvent être classées (Monosallier, 1994) en deux grands groupes :

(1) Flore non pathogène:

- flore psychrotrophe,
- flore lactique,
- flore thermorésistante,
- flore coliforme,
- flore butyrique.
-

(2) Flore pathogène

1. Flore non pathogène :

En général, 93 % des laits contiennent :

- moins de 50 000 germes totaux/ml, où la flore psychrotrophe reste généralement dominante (3 000 bactéries/ml).
- Les flores, lactiques et thermorésistantes sont présentes à des niveaux moyens de l'ordre de 1 000 bactéries/ml.
- Les teneurs moyennes en flores coliformes sont inférieures à 500 bactéries/ml (Heuchel et Sommellier, 1997).

Cette flore constitue la flore de transit sans grande conséquence pour les conservations ou les transformations ultérieures du lait (Monosallier, 1994)

2. La flore pathogène:

Nombreux sont les germes pathogènes, qui peuvent contaminer le lait. Habituellement, sont ceux responsables de mammites ; ils sont formés de deux groupes au sein desquels, on distingue les pathogènes majeurs et mineurs (Il seront détaillés dans le chapitre II)

- germes contagieux (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*),
- germes d'environnement (*Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*)

D'autres germes, responsables de maladies infectieuses contagieuses, induisent également de temps à autre des troubles mammaires : *Brucella*, *mycobactérium tuberculosis*, *bacillus anthracis*, virus de la leucose et de la fièvre aphteuse (Hanzen, 2000).

I.2.1.2.2- Le colostrum:

C'est un liquide jaune visqueux, présent dans la mamelle quelques jours avant et après le part. Son taux de protéines y est très élevé du fait de la concentration élevée en immunoglobulines (14%). La proportion des caséines est faible (4%) bien que leur quantité soit supérieure à celle du

lait. Les concentrations en protéines et en matières grasses passent respectivement de la première traite au 10^{ème} jour de 160 g/l à 35 g/l et de 50 g/l à 39 g/l respectivement (Hanzen, 2000).

A coté des constituant synthétisés localement (lipides, lactoses, α - lactalbumine), la perméabilité des jonctions serrées permet, à coté de la voie classique transcellulaire, un passage complémentaire des protéines sériques, des immunoglobulines et des ions (sodium et chlore)(Olliver et Sordillo, 1989).

I.2.2. le Tarissement (période sèche) :

Elle correspond à l'arrêt de la lactation donc à la cessation complète de la sécrétion lactée. Classiquement, cette période dure 60 jours et débute par une phase d'involution :

- 1) active de la mamelle, d'une durée moyenne d'un mois. Il s'agit en fait, du passage d'un organe métaboliquement très actif avec sécrétion intense, à celle de glande au repos sans aucune activité sécrétoire bien définie. On assiste à un changement total :
 - du débit sanguin,
 - de la composition des sécrétions,
 - du volume et de la morphologie de la mamelle,
 - de la forme des lactocytes et de l'aspect de l'épithélium alvéolaire.

Les éléments du lait vont être, dès alors, résorbés (lactose, protéines et minéraux) ou phagocytés (globules gras) par des macrophages qui envahissent la mamelle.

- 2) Consolidée, qui fait suite à la précédente, de durée variable en fonction de la longueur de la période du tarissement. Elle correspond à la complète involution de la glande, caractérisée essentiellement par la régression des structures alvéolaire (disparition du réticulum endoplasmique et des vésicules golgiennes), et des lumières alvéolaire. Les lactocytes sont de petite taille, avec un rapport cytoplasme sur noyau minimal, tandis que la part occupée par le stroma inter-alvéolaire augmente de plus en plus.

Seul l'essentiel de la structure lobulo-alvéolaire de la glande est sauvegardée, pour une nouvelle lactation où des phénomènes de régénération et de réactivation des lactocytes vont être instaurés pour la colostrogénèse (Dosogne et al., 2000).

CHAPITRE II : PATHOLOGIE DE LA GLANDE MAMMAIRE (Mammite).

La mammite se définit comme une inflammation de la glande mammaire. Physiologiquement c'est une réaction de défense contre une agression locale, d'origine infectieuse dans la plupart des cas (Poutrel, 1985).

Elle se caractérise par des changements physiques, chimiques et habituellement bactériologiques, du lait et par des lésions pathologiques du tissu glandulaire. Les modifications les plus importantes du lait comprennent un changement de couleur, la présence de caillé et d'un grand nombre de leucocytes. Alors que le plus souvent la maladie s'accompagne de gonflement, de douleur et d'induration de la glande mammaire, (Radostits et al, 1997).

Dans l'état actuel des connaissances, il semble exact et commode de définir la mammite comme étant une maladie caractérisée par l'existence d'un nombre élevé de leucocytes dans le lait (Radostits et al, 1997).

I 1. ETIOLOGIE :

Les travaux de Watts et al., 1988 ont permis l'identification plus de 137 espèces et sous espèces de germes associées à la glande mammaire de la vache. Plusieurs d'entre elles constituent la flore bactérienne normale et ne causent pas, sauf exception, de mammites. Néanmoins, d'autres micro-organismes peuvent provoquer des inflammations.

Dans 90 % des cas, ceux sont par ordre d'importance :

- Les streptocoques (*St. Agalactiae*, *St. dysgalactiae*, *St. uberis*).
- Les staphylocoques (*S. auréus*).
- Les coliformes (*Escherichia Coli*, *Klebsiella SPP*, *Enterobacter Aerogenes*).
- Les actinomycètes (*Actinomyces pyogenes*).

Quelques années plus tard, Le Roux (1999) a identifié plus de 200 espèces différentes d'une importance inégale basée sur la combinaison de la fréquence, de la persistance et de la sévérité des infections qui varient selon l'espèce en cause (Cf. tableau II), parmi lesquelles, cinq espèces prédominent :

- Staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) (1).
- Trois espèces de Streptocoques (*Streptococcus agalactia*, *Str dysgalactia*, *Str uberis*) (2).
- Les colibacilles (*Escherichia coli*) (3).

I 1 Les staphylocoques :

Staphylococcus aureus hémolytique, coagulase positive est difficile à mettre en évidence dans la forme suraiguë, surtout lorsque les tissus nécrosés sont envahis par *Escherichia coli* et les *Clostridies*. La β -toxine ou la combinaison des α et β -toxines sont produites par la plupart des souches bactériennes pathogènes isolées chez la vache. Leur signification pathogène reste douteuse. Mais, il semble y avoir une modification de la sensibilité avec l'âge (Radostitis, 1997).

I 2 Les Streptocoques :

En plus de *Streptococcus. Agalactiae*, d'autres *Streptocoques* sont responsables d'infections mammaires non communes, tels que *St. equi.var.zoo epidemicus*; *St. viridans* (Groothuis , 1981); *St. spp groupe G* (Watts et al., 1984); *St. pyogenes* et *St. pneumoniae*.

Streptococcus agalactiae est le micro-organisme le plus souvent responsable des mammites sub-cliniques, mais provoque rarement les mammites aiguës (Wattiaux , 1996).Pour *Streptococcus. agalactiae*, cette sensibilité augmente au fur et à mesure de l'âge, alors qu'elle atteint son maximum chez les jeunes effectifs, dans le cas de *Staphylococcus. Aureus*.

I 3 Les Entérobactéries :

Escherichia. coli; *Klebsiella* et *Enterobacter. aerogenes* provoquent le plus souvent la forme suraiguë, à déclenchement subite, occasionnant de considérables pertes économiques. *Escherichia*

coli est le germe le plus communément rencontré avec plusieurs sérotypes (Sanchez-Carlo et al, 1984), multiples types capsulaires de *Klebsiella Pneumonia* (Bramman et al, 1973), et *Enterobacter Pyogenes* (Linton et al, 1984).

Tableau II : Relations entre sévérité, durée et origine des infections mammaires (d'après Le Roux, 1999).

Micro-organismes	Caractères de l'infection			
	Fréquence	Persistance	Sévérité	Réservoir
<i>Staphylococcus auréus</i>	+++	+++	+	Mamelle
<i>Streptococcus : agalactiae, dysgalactiae</i>	+++	++	++	Mamelle
<i>Streptococcus ubéris</i>	+++	++	++	Environnement
Colibacilles	++	+	+++	Environnement

II. SYMPTOMATOLOGIE :

Classiquement, on distingue deux types différents de mammite (clinique et subclinique), dont la symptomatologie est différente, et qui peuvent être, des symptômes (Cf. Tableau III) (Hanzen, 2000 ; Rupp, 2000) :

- **Les symptômes généraux**, qui sont des modifications plus ou moins importantes de l'état général telles que la perte de l'appétit, l'absence de rumination ou l'hyperthermie.
- **Les symptômes locaux**, qui s'observent au niveau du pis et se traduisent par les signes classiques de l'inflammation (rougeur, douleur, chaleur et tuméfaction).
- **Les symptômes fonctionnels** traduisant l'atteinte de la fonction de sécrétion et se manifestant par des modifications macroscopiques de la quantité et de la qualité du lait (Vestweber, 1994).

Tableau III : Symptômes lors de mammites (modifié, d'après Vestweber, 1994).

Symptomatologie	Aspect	Mammite sub-clinique	Mammite clinique		
			Chronique	aiguë	Sur-aiguë
Symptômes généraux	Etat général	-	-	-	+
Symptômes locaux	Etat de la mamelle	-	+/-	+	++
	Aspect du lait	-	+	++	+++
Symptômes fonctionnels	Cellules	+	+	++	+++

- : Absence de manifestations, + : Présence de manifestations.

En effet; on définit les différents types de mammites comme suit :

- Latente.
- subclinique.
- Clinique :

- Suraigu
- Aigue
- Sub-aigue.
- Chronique.
- Non spécifique.

II.1. Infections Latentes :

Elle est caractérisée par la présence de germes pathogènes dans le lait malgré une numération cellulaire normale (Weisen, 1974).

II.2. La mammite subclinique :

La mammite sub-clinique est la forme la plus fréquente des infections mammaires. En Europe, elle représente 97 % de toutes les mammites (Rodenburg J, 1997).

Elle ne présente aucun signe clinique. L'état général de l'animal est parfaitement normal, la mamelle est cliniquement saine et le lait ne présente aucune modification macroscopique. Par contre, l'examen cytologique du lait met en évidence une augmentation parfois considérable du nombre de polynucléaires. De même, son analyse biochimique révèle la présence de modifications parfois très importantes de la composition du lait (Hanzen, 2000).

En plus, on constate une baisse de la production laitière de 10 à 25 % (Rodenburg J, 1997). Cette réduction de production persiste longtemps et diminue considérablement les résultats de lactation des vaches infectées (Wattiaux, 1996 ; Hanzen, 2000).

Lors d'une mammite sub-clinique, la vache possède une résistance naturelle qui limite la dissémination des bactéries dans le pis. Sous l'effet d'un stress, cette résistance diminue.

Ce type de mammite résulte de l'évolution de foyers infectieux au sein du parenchyme, créés par des germes que l'organisme n'arrive pas à éliminer. Elle peut évoluer sur plusieurs lactations et aboutir à une fibrose plus ou moins importante des quartiers atteints (Hanzen, 2000).

II.3. La mammite clinique :

Contrairement aux infections sub-cliniques, les mammites cliniques se caractérisent par des modifications inflammatoires apparentes sur la mamelle et ses sécrétions, comme elles peuvent s'accompagner d'une perturbation plus ou moins grave de l'état général de l'animal.

Leur fréquence est nettement plus faible que celle des mammites sub-cliniques. On rappellera que pour chaque cas de mammite clinique, il y a en moyenne 20 à 40 cas de mammites sub-cliniques (Vestweber et al; 1994; Wattiaux, 1996).

Selon l'intensité et la rapidité d'apparition des symptômes, on distingue dans cette forme :

- Le type suraigu.
- Le type aigu.
- Le type sub-aigu.

a. Le type suraigu :

C'est une inflammation très brutale de la mamelle apparaissant habituellement dans les jours suivant le vêlage.

L'état général de l'animal est souvent très affecté et on peut noter de la fièvre et un abattement profond. La mamelle est extrêmement congestionnée, douloureuse, chaude et volumineuse. La sécrétion lactée est soit interrompue, soit très modifiée et présente alors un aspect séreux, aqueux ou hémorragique (Radoslits et al, 1997). Elle est rare mais souvent mortelle (Vestweber et Leipold ; 1994).

Ce type de mammite se caractérise par une très grande rapidité d'apparition et d'évolution.

Elle peut revêtir deux formes caractéristiques :

- l'une dite paraplégique, car pouvant entraîner le décubitus de l'animal. Elle est le plus souvent due à des coliformes et se caractérise par un syndrome d'hypothermie,
- l'autre dite gangreneuse, se caractérisant par une nécrose rapide du quartier atteint après une phase d'intense inflammation et formation d'un sillon disjoncteur séparant les tissus vivants des tissus morts. Ceux-ci sont noirâtres et froids, la sécrétion est alors nauséabonde. Cette mammite est due le plus souvent à *Staphylococcus aureus* ou parfois à des bactéries anaérobies telles le genre *Clostridium*.

b. Le type aigu :

C'est une inflammation brutale de la mamelle qui ne se accompagne pas d'effets généraux. Les symptômes restent localisés au niveau de la mamelle qui apparaît rouge, gonflée, douloureuse et chaude. La sécrétion lactée présente un aspect crémeux, de couleur bleue verdâtre et d'odeur nauséabonde. Le quartier atteint est le siège d'une inflammation intense et l'état général de l'animal peut être gravement affecté (Vestweber et Leipold , 1994).

La production laitière est modifiée en qualité et en quantité. Cette mammite évolue moins rapidement que la précédente, parfois pendant quelques semaines, mais peut dans certains cas, conduire à la mort de l'animal. Elle survient à tous les stades de la lactation et est déclenchée par différentes bactéries. Elle peut revêtir une forme caractéristique appelée mammite d'été due à l'action conjuguée de plusieurs bactéries dont *Corynebacterium pyogènes* transmis par des mouches dont *Hydrotea irritans*.

c. Le type subaigu :

La mammite subaiguë est une inflammation bénigne de la mamelle qui ne se manifeste que par des altérations de la sécrétion. Elle est caractérisée par la présence de flocons et de grumeaux dans le lait des premiers jets. Le produit de sécrétion apparaît plus ou moins visqueux, traversant difficilement le filtre à lait (Weisen ., 1974; Poutrel., 1985).

II.4. La mammite chronique :

C'est une inflammation modérée mais persistante de la mamelle, évoluant lentement sur plusieurs mois, voire plusieurs années, parfois durant la vie entière de l'animal. Elle fait habituellement suite à une mammite aiguë ou suraiguë. L'état général de l'animal n'est pas affecté. Les signes locaux sont extrêmement discrets et se traduisent par la présence, dans le parenchyme mammaire, de zones fibrosées de taille et de localisation variable, palpables après la traite. Le lait présente de façon plus ou moins régulière, des grumeaux dans les premiers jets. Petit à petit, la sécrétion diminue, le quartier s'indure et finit par se tarir complètement (quartier atrophié). On note souvent, au cours de l'évolution de cette mammite, l'apparition d'épisodes cliniques plus ou moins intenses traduisant une mammite subaiguë. Cette évolution chronique est la forme la plus caractéristique des infections dues aux *Staphylocoques* ou aux *Streptocoques* (Vestweber et al., 1994).

II.5. Les mammites non spécifiques :

Ce type de mammites se présente lorsque aucun germe pathogène n'est isolé et identifié (Weisen, 1974).

III. Pathogénie :

Une fois dans le sinus du trayon, les germes doivent s'adapter à ce nouveau milieu que constitue le lait, au demeurant fort différent de la peau et du milieu extérieur (Burvenich et al, 1995).

En fait :

- le lait mammitique constitue un meilleur milieu de culture que le lait sain tout au moins pour les germes responsables de mammites
- La protéolyse des béta-caséines libère des peptones favorisant la multiplication bactérienne. Par ailleurs, de nombreuses bactéries pathogènes produisent des hémolysines. Le milieu se trouve ainsi enrichi en fer (élément favorisant la croissance bactérienne) libéré lors de la destruction des globules rouges.

En général, la présence d'un germe constitue un obstacle au développement d'autres germes. C'est la raison pour laquelle, dans une exploitation, la flore se limite habituellement à une voire deux espèces pathogènes. (Hanzen, 2000).

Une fois adaptée, les germes se multiplient, se fixent sur les cellules de l'épithélium des canaux galactophores et progressent vers le haut de la mamelle. Il convient de préciser la capacité d'adhésion des germes à l'épithélium glandulaire et donc de résistance au flux de lait lors de la traite varie selon les germes. Leur présence ou la sécrétion de toxines occasionnent une irritation des cellules et provoquent la formation de lésions responsables de l'appel et de l'arrivée de polynucléaires neutrophiles. A ce stade, trois cas sont envisageables :

(1) La guérison : La réponse de l'organisme est suffisante et précoce. L'infection est éliminée avec ou sans forme cliniquement visible. Cette évolution n'est observée que dans 20 % des cas.

(2) L'extension: la réponse de l'organisme est insuffisante et tardive : elle ne peut empêcher l'infection de s'étendre. Les formes cliniques évoquées peuvent évoluer soit vers la guérison totale (rare) ou la mort rapide de l'animal (formes suraiguës), soit vers une forme subclinique ou une forme chronique sur un temps plus long (Carven et al., 1985)

(3) La fluctuation: la réponse de l'organisme permet de limiter le développement des germes sans toutefois les éliminer totalement. La multiplication des bactéries provoque un afflux des polymorphonucléaires (PMN) qui diminuent le nombre de bactéries actives, ce qui en retour, limite la mobilisation des leucocytes. Il s'ensuit un nouveau développement microbien et un nouvel afflux de PMN, etc. On obtient un état fluctuant caractéristique des infections mammaires sub-cliniques. Les germes, dans ce cas, peuvent rester confinés sur les lieux de l'inflammation initiale jusqu'à ce que des circonstances extérieures affaiblissent les défenses de l'animal et permettent leur progression dans les tissus avoisinants, ou même le passage à une forme clinique à l'issue de laquelle l'animal guérit, retombe dans l'état fluctuant précédent ou perd définitivement l'intégrité de ses tissus (Hanzen, 2000).

IV. LE DIAGNOSTIC

Le diagnostic des mammites cliniques (1) et subcliniques (2) repose sur la mise en évidence des :

1. symptômes caractéristiques de l'inflammation de la mamelle.
2. conséquences cellulaires (modifications cytologiques), chimiques, et finalement bactériologiques de l'état inflammatoire de la mamelle.

IV 1. Diagnostic des mammites cliniques :

Ce diagnostic repose sur la mise en évidence des symptômes caractéristiques de l'inflammation de la mamelle :

- a. Généraux.
- b. Locaux.
- c. Fonctionnels.

a. Les symptômes généraux :

Les signes généraux sont présents lors de mammites aiguës et surtout suraiguës. Ils sont d'intensité variable et vont de la simple baisse d'appétit, avec ou sans fièvre, à la prostration complète, voire au coma par intoxication (due à l'exotoxine staphylococcique ou à l'endotoxine colibacillaire) et parfois à la mort (Rosenberg, 1979)..

b. Les symptômes locaux :

Les signes locaux seront mis en évidence par l'inspection et la palpation du pis et des trayons.

1 L'inspection :

L'inspection commence à distance en examinant l'attitude et la démarche, de la femelle, qui peuvent être modifiées si la mamelle est douloureuse. Puis on apprécie la couleur et le volume de la glande, le volume relatif des différents quartiers et l'existence d'éventuelles déformations ou asymétries. Enfin, on doit examiner les trayons et leurs orifices :

- La couleur de la peau de la mamelle est généralement rose. Lors d'inflammation, elle peut devenir rouge. Dans les cas de mammite gangreneuse, elle devient violacée et noire, puis se forme un sillon disjoncteur limitant la partie nécrosée.
- On peut observer la présence de déformations (nodules, abcès) et de lésions du tégument (plaies, gerçures, crevasses, papillomes, lésions diverses des trayons) et de l'orifice du trayon (éversion, micro hémorragies)(Rosenberg , 1979).

2. La palpation :

La palpation permet de mettre en évidence :

- Des modifications de consistance du trayon et de la glande.
- Une douleur vive lors d'inflammation aiguë, alors que les inflammations chroniques ne sont pas accompagnées de modifications de la sensibilité.

Au niveau du canal et du sinus du trayon, on notera la présence d'indurations et de nodules. La perméabilité doit être vérifiée car elle est :

- augmentée lors de lésion du sphincter ou de fistule,
- Diminuée (traite difficile ou impossible) lors d'atrésie du canal et d'obstruction par des calculs, des papillomes ou des décollements de la muqueuse.

La consistance de la glande varie, selon :

- le moment de la journée (tendue avant la traite, souple et élastique après la traite),
- Le stade de lactation (la glande tarie est généralement plus souple).

Cependant, la consistance est augmentée lors d'inflammation et un quartier peut être uniformément plus dur que la normale (pis nouveau), ou bien présenter des nodules indurés ou des abcès. Certains signes locaux sont assez caractéristiques d'une infection : gangrène (mammites staphylococcique suraiguë), quartier très enflammé associé à une agalaxie (réflexe) du reste de la glande (mammites à entérobactéries), nombreux abcès contenant un pus caséux, verdâtre et nauséabond (mammites à corynebactéries) (Kelly, 1971).

c. Les symptômes fonctionnels :

Bien souvent, lorsque l'inflammation est modérée, les signes généraux et locaux sont absents et seuls sont présents les signes fonctionnels, c'est-à-dire les modifications macroscopiques visibles dans le lait. Ces modifications concernent l'aspect, la coloration et l'homogénéité du lait (Kelly , 1971).

1 Le test du bol de traite ou du filtre :

Cette épreuve consiste à recueillir, avant la traite, les premiers jets de lait de chaque quartier dans un récipient réservé à cet usage et à en examiner l'aspect. Le récipient peut être muni d'un filtre

(petit tamis, passoire à thé...) qui facilite la mise en évidence de grumeaux, signes d'une inflammation et du passage dans le lait de facteurs de coagulation. En cas de traite mécanique, la recherche des grumeaux peut être facilitée par la mise en place sur le tuyau long à lait de détecteurs en ligne constitués d'un filtre amovible (Rosenberger, 1979).

2. Le test d'homogénéité :

Il suffit de recueillir quelques jets de lait dans un récipient en verre (tube à essai, flacon à prélèvement), de laisser reposer quelques minutes, puis d'observer l'aspect, l'homogénéité et la coloration du produit.

On peut mettre en évidence un lait de couleur rougeâtre contenant des caillots sanguins lors d'hémolactation ou de mammites dues à des germes producteurs hémolysines. Lors de mammite à entérobactéries, le produit de sécrétion ressemble à de l'urine (ou de la bière) dans laquelle flotteraient quelques grumeaux. Parfois, c'est un pus crémeux, verdâtre et nauséabond qui est recueilli, lors de mammites à corynebactéries. Enfin, on peut ne trouver qu'un lait aqueux sans modifications particulières (Rosenberger, 1979).

IV .2 Diagnostic des mammites subcliniques :

Le diagnostic des mammites sub-cliniques repose d'une manière générale sur la mise en évidence des conséquences cellulaires (modifications cytologiques), chimiques, et finalement bactériologiques de l'état inflammatoire de la mamelle (Nielen et al, 1992). Les mammites subcliniques provoquent un endommagement du tissu épithélial sécréteur qui compromet les caractéristiques de la composition des laits

Il est basé sur (Radostits et al, 1997) :

- Le dénombrement des cellules somatiques dans le lait **(1)**.
- La recherche des modifications physico-chimiques du lait **(2)**.
- L'analyse bactériologique **(3)**.

IV .2 1. La numération cellulaire du lait :

Elle repose sur la mesure de la concentration cellulaire(sera décrite dans le chapitre III) ,

IV .2. 2. modifications physico-chimiques du lait :

a. Le test de la catalase :

L'action de la catalase des leucocytes et des bactéries du lait sur le peroxyde d'hydrogène induit l'apparition d'oxygène. La formation de 20, 30 et 40% de gaz correspond respectivement à la présence de 500×10^3 , 10^6 et $2 \text{ à } 3 \times 10^6$ cellules par ml de lait.

Cette méthode requiert 3 heures environ et un matériel assez coûteux. De plus, après 24 heures de conservation, la formation de gaz s'accroît (Nielen et al, 1992).

b. Mesure de l'activité NAGasique dans le lait :

Le principe de ce test est basé sur la mesure de l'activité enzymatique de la N-acétyl- β -glucosaminidase dans le lait. Cette activité enzymatique est directement proportionnelle au nombre de cellules du lait. En effet, une forte activité dans le lait indique un taux cellulaire élevé. Ce test s'effectue sur un lait frais et le résultat s'obtient le jour même (Radostits, 1997).

c. Méthode ELISA :

Cette méthode permet de mesurer les taux élevés d'antigènes des granulocytes polynucléaires, fournissant une estimation du taux cellulaire dans le lait, même à des valeurs

inférieures à 100×10^3 cellules par millilitre de lait. L'exactitude de cette méthode fait d'elle un excellent moyen de détection des mammites (O'sullivan et al, 1992 ,In Hanzen ,2000).

d. Mesure de la conductibilité électrique du lait

On entend par conductibilité, la propriété d'une substance à transmettre le courant électrique (propriété, dont jouissent les corps, de propager la chaleur et l'électricité et de les communiquer aux corps voisins). Le contraire de la conductibilité s'appelle la résistivité.

La détection de la conductibilité électrique, est réalisée avec deux électrodes simples positionnées à la base de la cellule de mesure, de façon à constituer une cellule conductimétrique (Le Roux, 1999).

Lors d'infection, la concentration des ions dans le lait change, parce que la perméabilité des capillaires sanguins augmente et que l'imperméabilité des jonctions entre les cellules diminue. Après l'endommagement des cellules, la teneur en sodium et en chlore augmente donc, pour maintenir la pression osmotique alors que la concentration en potassium et en lactose diminue. La modification de la concentration de sodium, de chlore et de potassium provoque ainsi une augmentation de la conductibilité électrique du lait . Elle peut être mesurée par quartier et donne des résultats fiables pour la détection des mammites (Le Roux, 1999).

Ce test a l'avantage de pouvoir être incorporé dans un dispositif de traite, permettant ainsi de suivre quotidiennement, l'évolution de la conductivité électrique. Ce dernier identifie sensiblement les mammites sub-cliniques, mais son aptitude à détecter les infections cliniques est seulement de 50 % (Radostits et al, 1997).

e. Mesure de l'activité anti-trypsique du lait :

Ce test mesure l'activité inhibitrice de la trypsine dans le lait. Après le premier mois de lactation, cette activité est due seulement aux anti-trypsines du sérum sanguin. Son augmentation dans le lait est significative de passage de ces agents d'inhibition du sérum vers le lait, à l'occasion d'éventuelles lésions de l'épithélium mammaire.

L'avantage de ce test réside dans le fait qu'il peut être facilement automatisé (Matilla ,1985 In Hansen , 2000).

f. Dosage de l'albumine sérique du lait :

Ce test chimique utilise le principe de l'estimation de la concentration de l'albumine sérique dans le lait. Une forte concentration de cette substance indique la présence de lésions dans l'épithélium mammaire (Bakken et al , 1985).

IV.3. Diagnostic bactériologique :

Le diagnostic bactériologique individuel a pour but d'identifier le ou les germes responsables de mammites et de déterminer leur antibio-sensibilité ou antibio-résistance.

Il souffre de plusieurs contraintes et requiert :

- du temps,
- une bonne technicité tant pour le prélèvement que pour l'examen,
- un esprit critique compétent pour l'interprétation et l'exploitation du résultat,

Il est par ailleurs coûteux et connaît aussi certaines limites puisque 70 % des prélèvements seulement donnent lieu à un résultat positif.

Cette caractéristique est imputable à la fois :

- Au principe même de l'examen : La variabilité de l'excrétion des germes dans le lait fait qu'un résultat négatif ne signifie pas forcément l'absence de germes dans le quartier.
- A la fréquence des prélèvements : On se souviendra, que les germes dits contagieux sont responsables d'infections durant plusieurs mois et parfois observées d'une lactation à l'autre. Les infections par des germes coagulase - ou par des streptocoques d'environnement durent plusieurs semaines, enfin les infections par des coliformes sont habituellement de courte durée ; 57 % d'entre elles durent moins de 10 jours et 13 % d'entre elles durent plus de 100 jours.
- Par ailleurs, l'isolement d'un germe à partir d'un prélèvement ne signifie pas l'existence de ce seul germe dans l'exploitation. A la réalisation du prélèvement, certaines contaminations exogènes peuvent souiller le prélèvement et perturber la croissance des germes véritablement en cause. De plus, au moment du prélèvement, l'éventuel traitement antibiotique préalable modifie considérablement le tableau bactériologique.

Il suppose une **stratégie de prélèvement**. Il faut savoir limiter les prélèvements aux circonstances où elles s'avèrent indispensables, c'est-à-dire, en cas de mammite :

- cliniques : si l'exploitation est confrontée à une augmentation brutale de leur incidence ou à un problème de récurrence après échec de mesures préventives ou curatives
- sub-cliniques pour en contrôler l'origine infectieuse et l'efficacité des mesures préventives utilisées.

Chaque méthode a en effet des avantages et des inconvénients :

(1) sur tout le troupeau: cette méthode permet de déterminer la prévalence et la nature de l'infection ; le coût est cependant élevé. En effet, Neave et al (1975) ; Griffin et al (1977), Pouterl (1985) et Badinaud (1984); Serieys (1985a); Prikazsky (1986) ; montrent que la disposition de plusieurs résultats bactériologiques à une fréquence allant de 48 h à plusieurs semaines, 97% des quartiers sains et 92,1 % des quartiers infectés peuvent être détectés au premier prélèvement et confirmé par la suite. Prikazsky (1986), rapporte que les *staphylococcus aureus* et *streptococcus* (agalactiae, dysgalactiae, uberis) sont isolés et confirmés par la suite dans 90% et 95% des cas respectivement. Berthelot et al (2001) affirment que pour une excrétion bactérienne intermittente de certains germes notamment celle de *staphylococcus aureus*, la sensibilité de détection passe de 75% à 94 % après un second prélèvement.

(2) sur les animaux dont la concentration cellulaire individuelle est élevée: on réduit les coûts mais cela suppose de pouvoir disposer d'une bonne information et de critères de sélection (valeur du seuil) appropriés. Dans le cas contraire, on risque de passer à côté de vaches infectées ; Il semble que la valeur prédictive du score linéaire (SL) pour identifier les vaches infectées soit supérieure à celle du CCI, paramètre qui doit davantage être utilisé pour sélectionner les vaches à traiter. Des germes contagieux sont habituellement identifiés chez des vaches dont le SL est > 4.5. C'est moins le cas avec des germes d'environnement dont la présence dans la glande mammaire est plus courte bien que les taux cellulaires soient élevés. Dans ce cas, un prélèvement devrait être réalisé dès l'apparition de chaque cas clinique (Hanzen ,2000).

Sur les seuls cas cliniques : on peut dans ce cas passer à côté d'un problème concernant le troupeau ;

Au hasard : les résultats dépendront de la taille du troupeau. Le risque d'une mauvaise détection des infections est réel.

(3) dans le tank à lait : ne donne que peu d'information sur le troupeau. Il sert surtout à contrôler l'efficacité de mesures préventives mises en place notamment en cas d'infections par le *Streptocoque agalactiae* ou les Mycoplasmes. (Hanzen, 2000). Cependant, Berthelot et al (2001) affirment qu'un meilleur protocole de surveillance sanitaire des troupeaux doit débiter par un diagnostic bactériologique sur le lait de tank afin de dépister les germes spécifiques de mammites avant de s'orienter vers le dépistage des animaux excréteurs.

CHAPITRE : III LES CELLULES DE LA SECRETION LACTEE:

I. LES CELLULES :

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 Lasmanis, 1968).

Comme tout liquide biologique, le lait, même normal, contient des cellules somatiques Elles sont de nature hétérogène. Outre les cellules d'origine sanguine (PMN , macrophages et les lymphocytes.....) impliquées essentiellement dans les défenses immunitaire de la mamelle, le lait contient également des cellules épithéliales qui proviennent de la desquamation de l'épithélium glandulaire ou des canaux lactifères d'une part et ne jouent aucun rôle physiologique particulier d'autre part (Rupp, 2000).

I.1. Nature des cellules somatiques présentes :

La mise en évidence des cellules somatique remonte à 1910 grâce au travaux de Prscott et Breed. Néanmoins, selon Lee et al. (1980), l'utilisation de la microscopie électronique a permis de distinguer deux grandes catégories principales :

- Les cellules épithéliales,
- Les leucocytes

I.1.1. 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 (Badinaud (1994). Elles représentent, la plus faible proportion des cellules somatiques du lait (0 à 7%) (Lee et al., 1980). Comme elles peuvent constituer la majorité des cellules (40 à 85 %).(Giasecke et Vanden Heever., 1967).

I.1.2. Les cellules leucocytaires :

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

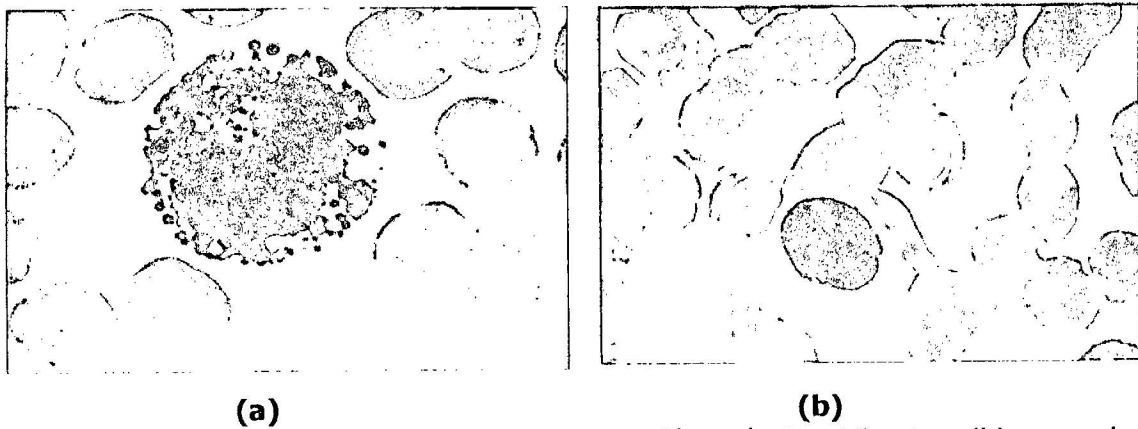
- les polymorphonucléaires (neutrophiles, éosinophiles, et basophiles),
- les monocytes (représentés essentiellement par les macrophages),
- les lymphocytes.

a. Les Polymorphonucléaires :

Ils sont de trois types, les neutrophiles, les éosinophiles et basophiles (Cf .figure 7 et 8). Les plus nombreux sont les neutrophiles. Ceux sont des cellules à noyau polylobés dont le diamètre est de 7,5 à 10 μm (Cullen, 1966).



Figure 7 : Frottis sanguin montrant deux polynucléaires neutrophiles (d'après ERIC P.H., 1997).



(a) **(b)**
Figure 8 : Frottis sanguin montrant en (a) : un polynucléaire éosinophile et en (b) : un polynucléaire basophile (d'après ERIC P.H., 1997).

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 et al., 1971) (Cf. figure 9).

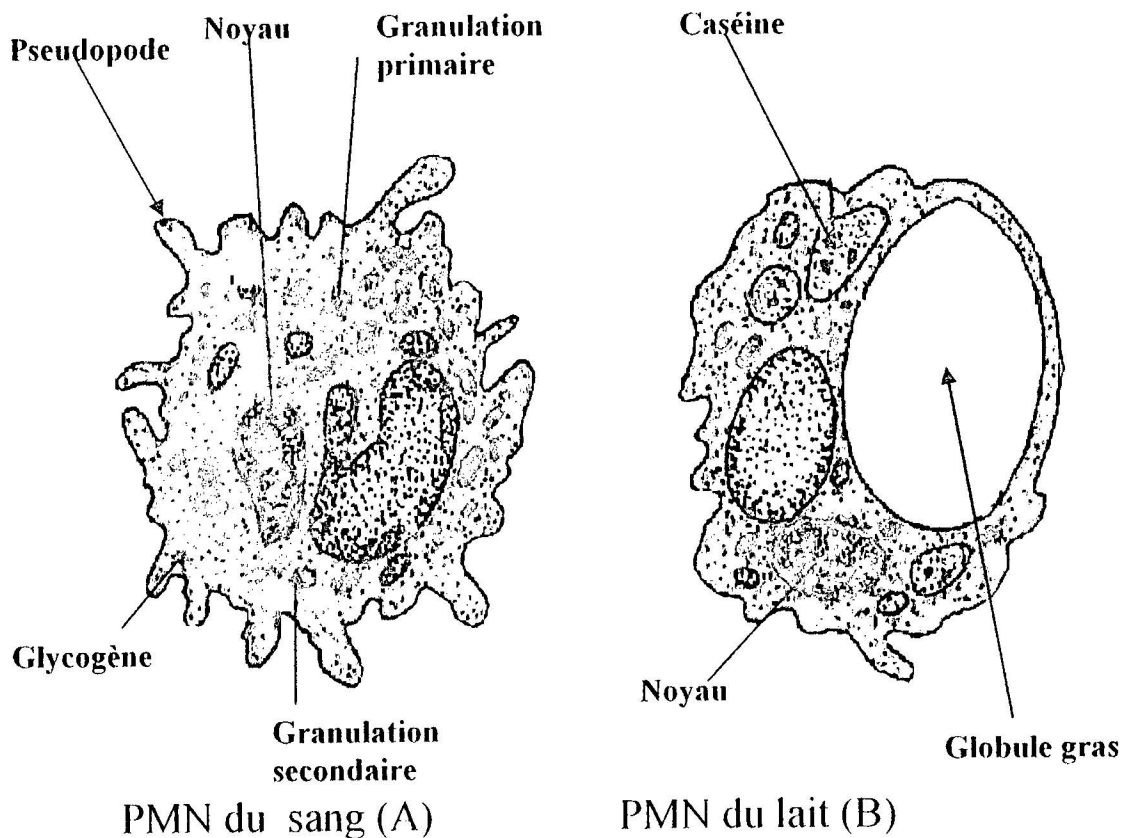


Figure 9 : Structure comparée des polymorphonucléaire neutrophiles du sang (A) et du lait (B) (d'après Le Page, 1999).

Ils constituent le type cellulaire dominant lors d'infections intramammaires (Craven et Williams, 1985; Sordillo et al., 1997). L'afflux massif de ces cellules du sang vers la mamelle entraîne une importante augmentation du nombre total des cellules somatiques dans le lait et peuvent présenter le type majoritaire (90%) (Serieys, 1985b).

En effet, la concentration en cellules somatiques ou « comptage global et indifférencié de l'ensemble des cellules somatiques par unité de volume du lait » représente une estimation de la concentration des PMN et l'état inflammatoire de la mamelle (Rupp, 2000).

b. Les Macrophages :

Ce sont de grosses cellules avec un diamètre de 15 à 24 μm (cf. figure 10) (Cullen, 1966) ; 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 (Badinaud, 1994). Elle présente le type majoritaire de la mamelle saine (Craven et Williams, 1985 ; Sordillo et al., 1997).

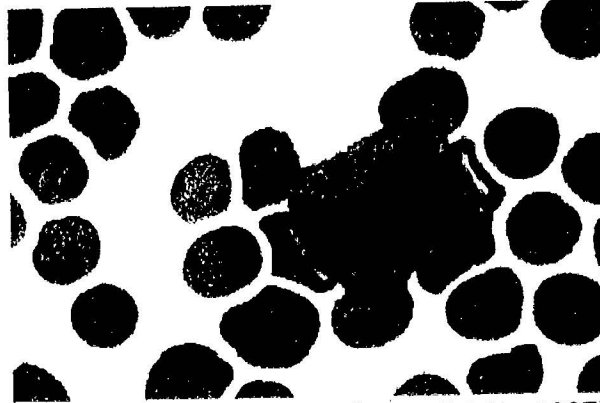
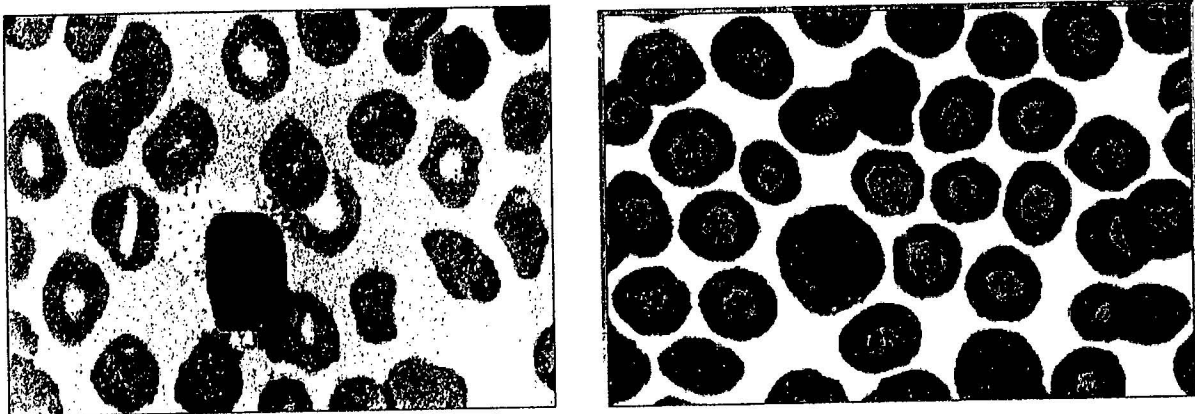


Figure 10: Frottis sanguin montrant un monocyte (d'après ERIC P.H., 1997).

c. Les Lymphocytes

Ce sont les cellules impliquées dans la défense spécifique de la mamelle. Ils sont capables de reconnaître les agents pathogènes par leur surface membranaire. Leur diamètre est de 5 à 7 μm (Cf. figure 11) (Cullen, 1966). Ils constituent environ le quart (24%) de la population des cellules présentes dans le lait des vaches saines (Miller et al., 1991).



(a)

(b)

Figure 11: Frottis sanguin montrant en (a) : un grand lymphocyte et en (b) : un petit lymphocyte (d'après ERIC P.H., 1997).

Ils sont divisés en trois grands groupes qui diffèrent par leurs fonctions et par les protéines sécrétées (Sordillo et al., 1997) :

- Les lymphocytes B,
- les lymphocytes T, Les principaux lymphocytes T sont les lymphocytes T helper, les lymphocytes T suppresseurs ou cytotoxiques et les lymphocytes T α et β .
- les cellules tueuses.

I.2. Répartition des populations cellulaires :

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 (Bergonier et al., 1994a ; Le Page, 1999).

Cette répartition a longtemps été discutée en raison de la difficulté à différencier ces cellules (Le Page, 1999). Néanmoins, l'approche est différente, tenant compte de la présence ou absence d'infection de la mamelle.

I.2.1. Hors infection :

Les différentes cellules retrouvées dans le lait évoluent, en nombre et en proportion, en fonction du stade physiologique de la lactation (Le Page, 1999). D'une façon générale, la proportion des macrophages est presque majoritaire durant le cycle de la lactation (Cf. tableau IV).

Tableau IV : Répartition des différentes populations cellulaires du lait en l'absence d'infection (d'après Lee, 1980).

	Pourcentage
Macrophages	66 - 88
PMN	0 - 11
Lymphocytes	10 - 27
Cellules épithéliales	0 - 7

I.2.1.1. Près du vêlage :

Les résultats semblent contradictoire, du fait que, Mc DONALD (1981) rapporte que le colostrum ne contient pratiquement pas de polymorphonucléaires.

En revanche, Lee (1980) et Hanzen (2000) indiquent qu'en l'absence de toute infection, le colostrum se caractérise par la présence :

- D'un nombre élevé de polymorphonucléaires dont le nombre diminue au cours de la première semaine suivant le vêlage, d'une part,
- d'un grand nombre d'érythrocytes pouvant parfois se traduire par une hémolactation, d'autre part.

I.2.1.2. En début de lactation :

Les proportions pourraient évoluer, mais ceci n'intéresserait de façon significative que les macrophages (66 à 88 %) (Cf. tableaux IV et V). Les travaux de Le Page (1999) rapportent une augmentation des cellules épithéliales par rapport au début et à la fin de la lactation.

Tableau V: Pourcentage des différents types cellulaires chez des primipares en début de lactation (Miller et al, 1988).

Semaines de lactation	Type cellulaire			
	Neutrophiles	Lymphocytes	Macrophages	Cellules Epithéliales
2	39,4	16,5	33,0	10,8
4	32,4	24,3	25,1	17,4
6	28,1	27,4	24,8	17,0
8	21,5	22,0	36,9	19,6
10	28,8	26,2	30,6	14,4
11	26,2	23,6	34,0	16,2
	NS	NS	P < 0,05	NS

NS : différence non significative.

I.2.1.3. En milieu de lactation :

Les travaux de Capuco et al (1995) et Serieys (1985b) rapportés par Le Page (1999) montrent, que les macrophages sont les cellules les plus représentées (88%), et que la population de cellules épithéliales est à son plus bas niveau en milieu de lactation (Cf. tableau IV). Ces dernières

représentent moins de 2 % en pleine production (Burvenich et al, 1998 ; Capuco et al, 1995, Targowski, 1983).

Saran et al (1998) rapportent que les populations leucocytaires des différents quartiers non infectés, d'une vache saine, ne sont pas significativement différentes. Les variations importantes observées entre vaches ainsi que la stabilité des comptages cellulaires et des répartitions au sein du même animal semblent indiquer une forte héritabilité (Le Page, 1999).

Les lymphocytes B ne représentent, que 3 à 20 % des lymphocytes totaux dans le colostrum, 5 à 7 % dans le lait, alors qu'ils constituent 20 à 30 % des lymphocytes du sang (Hilltron, 1991).

I.2.1.4. En fin de lactation :

Les primipares produisent plus de cellules en début de lactation que les multipares, mais cette tendance s'inverse en fin de lactation (Capuco et al.,1995 ; Miller et al., 1991). Concha (1986) a rapporté une répartition de 40 % de polymorphonucléaires neutrophiles, 30 % de macrophages et 30 % de lymphocytes.

I.2.1.5. Durant le tarissement :

Selon les travaux de Mc Donald (1981), les macrophages prédominent le premier jour du tarissement. Les jours suivants, les polymorphonucléaires neutrophiles sont les cellules les plus nombreuses dans les sécrétions de la mamelle.

Ce résultat est en contradiction avec ceux de Wilson (1996) et LEE (1980) qui montrent une prédominance marquée des macrophages durant le tarissement, seulement, ces derniers n'ont pas précisé le statut sanitaire des animaux. Néanmoins, les travaux du premier auteur sont confirmés par Burvenich (1998) et Serieys (1997).

I.2.2. Lors d'infection :

Vis à vis de l'infection, la proportion relative, dans le lait, de chaque type de cellules (épithéliales, polynucléaires, macrophages et lymphocytes) varie en fonction du statut du quartier ou de la mamelle (Craven et Williams, 1985 ; Miller et al., 1991; Sordillo et al., 1997).

Les infections provoquent des augmentations des concentrations cellulaires, des altérations sanguines (Atrochi et al.,1996 ; Mechelutti et al, 1997), et également des modifications considérables dans la répartition des populations cellulaires dans le lait.

L'augmentation se comptera en centaines de milliers, tandis que lors des modifications physiologiques, les variations des taux observés sont de l'ordre de quelques dizaines de milliers. On assiste, en particulier, à une élévation très importante du nombre de polymorphonucléaires neutrophiles (Cf.tableau . VI).

Concha et al (1986) et Grasso et al (1987) rapportent un pourcentage de polymorphonucléaires pouvant atteindre 90 à 95 % ; cette même observation a été faite par Paape et al (1979) en cas de mammite clinique ou subclinique. Dès lors, la détermination du taux de leucocytes devient un outil précieux de dépistage de l'infection mammaire.

Une très faible augmentation du pourcentage relatif des neutrophiles et des macrophages ainsi qu'une légère diminution du pourcentage des cellules épithéliales est constaté lors d'infection par un agent pathogène mineur tel que, *Staphylococcus coagulase négative*, (Le Page,1999). Le pourcentage des lymphocytes ne varie pratiquement pas .

En revanche, une augmentation du pourcentage relatif des neutrophiles ainsi qu'une diminution du pourcentage relatif des cellules épithéliales est constaté lors d'infection par un agent pathogène majeur (Miller et al, 1991) (Cf. tableau VI).

Tableau VI : Relation entre le statut bactériologique du quartier et les différents types cellulaires du lait exprimés en pourcentages (d'après Concha et al.1986 ; Miller et al 1991).

	Quartier stérile		Quartier infecté par un pathogène mineur		Quartier infecté par un pathogène majeur	
	MILLER 1991	CONCHA 1986	MILLER 1991	CONCHA 1986	MILLER 1991	CONCHA 1986
PMN	26	40	29	61	40	77
Lymphocytes	24	27	24	24	22	14
Macrophages	30	30	32	18	32	9
Cellules épithéliales	19		14		6	

I. 3.-ROLE DES CELLULES SOMATIQUES :

La glande mammaire est protégée par des mécanismes de défenses variés pouvant être scinder en deux catégories distinctes :

- l'immunité non spécifique (1),
- l'immunité spécifique (2).

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).

(1). L'immunité non spécifique constitue le système de défense prédominant aux premiers stades de l'inflammation. Elle est représentée par :

- les barrières physiologiques du canal du trayon,
- la phagocytose (impliquant les macrophages et les PMN),
- les cellules tueuses naturelles,
- certains facteurs solubles (les anticorps, la lactoferrine, le système de complément, les lysozymes, la lactopéroxydase...).

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

Elle est médiée par :

- les anticorps,
- les macrophages,
- et plusieurs types de lymphocytes

Dans ce chapitre, seul sera décrit le rôle des cellules somatiques, en insistant sur leurs actions phagocytaire (polynucléaires et macrophages) et non phagocytaire (lymphocytes.).

I.3.1 . Défenses phagocytaires :

I.3.1.1. Rôle des PMN :

Les PMN constituent le type cellulaire dominant lors des premiers stades d'infection (Marcus et al., 1994 ; Sordillo et al., 1997). Une fois sur le lieu, ils phagocytent et tuent les germes responsables en exerçant leur effet bactéricide (Craven et Williams, 1985 ; Rainard., 1991).

Les PMN doivent être recrutés sur le lieu de l'infection et doivent de plus reconnaître les agents pathogènes responsables avant de les phagocyter (opsonisation) pour exercer leur effet bactéricide.

a. Recrutement:

La migration des PMN sur le lieu de l'inflammation est la manifestation cellulaire typique de l'inflammation aiguë. Elle est le résultat d'une séquence d'événements vasculaires et cellulaires (Djabri, 1999).

Ces événements font suite à l'action de plusieurs médiateurs "pro-inflammatoires", qui affectent la micro-circulation locale, entraînant l'augmentation de la perfusion et de l'ouverture des jonctions intercellulaires de l'endothélium vasculaire et par conséquent, l'exsudation du plasma (oedème) et la diapédèse des polynucléaires (Craven et Williams, 1985 ; Rainard et al, 1999). (Cf. figure 12).

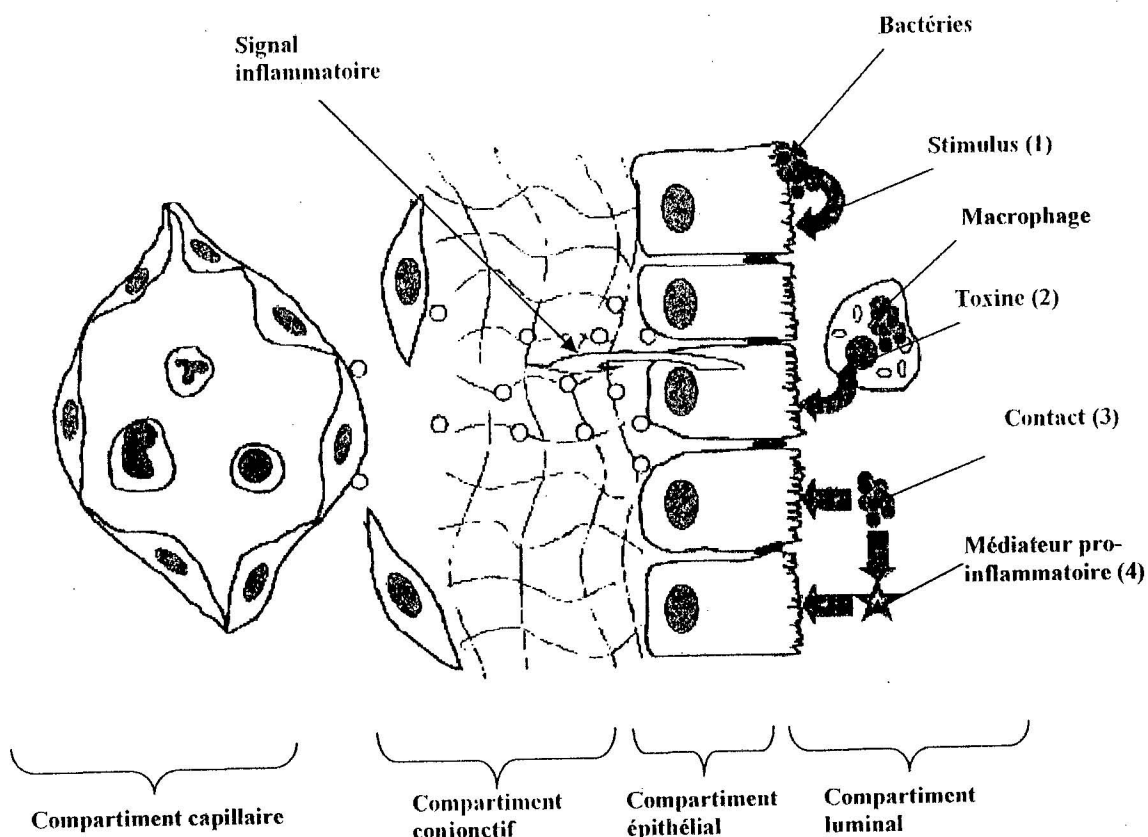


Figure 12 : Génération du premier signal inflammatoire et recrutement des PMN du sang vers la mamelle (d'après Rainard, 1999).

Légende : Le signal, déclenchant, prend sa source dans le compartiment luminal, il peut s'agir de **(1)** : stimulus de contact généré par des bactéries adhérentes à l'épithélium, **(2)** : toxines libérées par des bactéries se multipliant dans le lait, **(3)** : facteurs inflammatoires générés dans le lait par le contact avec des bactéries, **(4)** : médiateurs pro-inflammatoires sécrétés par des macrophages stimulés par l'ingestion des bactéries.

Les PMN migrent en réponse à plusieurs stimuli. Les toutes premières substances qui interviennent sont les substances vaso-actives :

- l'histamine,
- la sérotonine,
- les dérivés de l'acide arachidonique,
- les prostaglandines (notamment la $PGF_{2\alpha}$),
- et les leucotriènes.

Suite à l'action de ces substances, les PMN migrent des capillaires et veinules et s'accumulent dans le tissu sous épithélial, puis traversent l'épithélium pour se trouver dans la couche des cellules luminales. Ensuite, ils traversent cette couche en passant entre les cellules ou en passant à travers les régions dénuées de cellules épithéliales (Craven et Williams, 1985) (Cf. figure 13).

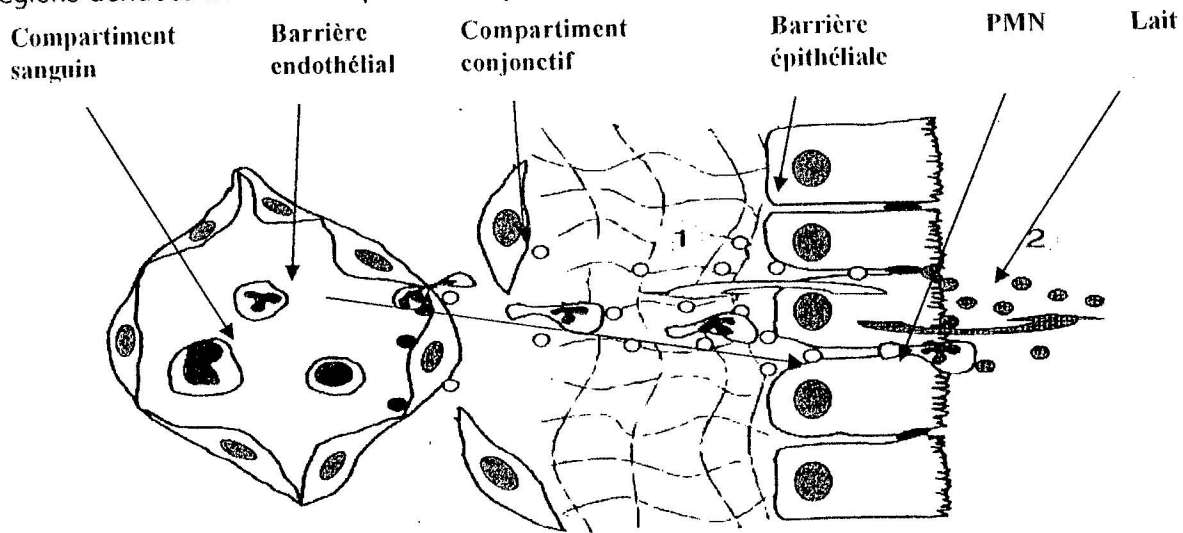


Figure 13: Représentation schématique du parcours des polymorphonucléaires neutrophiles au lait à partir d'une veinule post capillaire (d'après, Rainard, 1999).

Légende : (1) : un facteur pro-inflammatoire libéré pour attirer les PMN jusqu'à la lame basale, (2) : nouveaux signaux pour que les PMN traversent la barrière épithéliale.

Les facteurs qui accélèrent les mouvements des polynucléaires et définissent leurs directions sont les facteurs chimiotactiques pour lesquels ils possèdent des récepteurs spécifiques. Ces substances sont :

- le système du complément,
- les macrophages,
- les lymphokines,
- les endotoxines colibacillaires,
- les facteurs vasoactifs d'origine tissulaire,
- les prostaglandines,
- les leukotriènes.

D'autres substances peuvent avoir une activité chimiotactique telle que l'amidon, le glycogène, ou simplement un corps étranger (boucle de plastique). Les lymphocytes sont aussi impliqués dans le phénomène de recrutement spécifique des cellules polynucléaires (Craven et Williams, 1985 ; Rainard, 1991).

Une fois sur le lieu de l'inflammation, les cellules PMN libèrent le contenu de leurs granules lyzozomiaux (Gennaro et al., 1983). Ce qui provoque, une destruction locale du tissu mammaire et facilite la migration des autres cellules polynucléaires amplifiant ainsi l'inflammation (Schalm et Lasmanis, 1968).

b. Opsonisation :

Les PMN doivent pouvoir reconnaître et détruire les bactéries responsables sur le lieu de l'inflammation. La présence d'opsonines, substances qui rendent les bactéries intégrables, est le plus souvent nécessaire. C'est notamment le cas des bactéries impliquées dans les mammites (Rainard, 1991).

L'opsonisation fait intervenir essentiellement le système de complément et les anticorps. La surface de certaines bactéries activent le complément, ce qui provoque un dépôt du fragment C3b pour lequel les phagocytes possèdent un récepteur. Ce qui permet l'adhérence des bactéries au

phagocytes mais ne suffit pas généralement pour l'ingestion. La phagocytose, pour être efficace, doit faire intervenir certains types d'immunoglobulines, opsonisantes telle que: IgG, IgM, et IgA. Ces dernières favorisent le dépôt du fragment C3b du complément d'une part, et interagissent directement avec leurs récepteurs membranaires sur les phagocytes (Rainard, 1991) (Cf. figure 14)

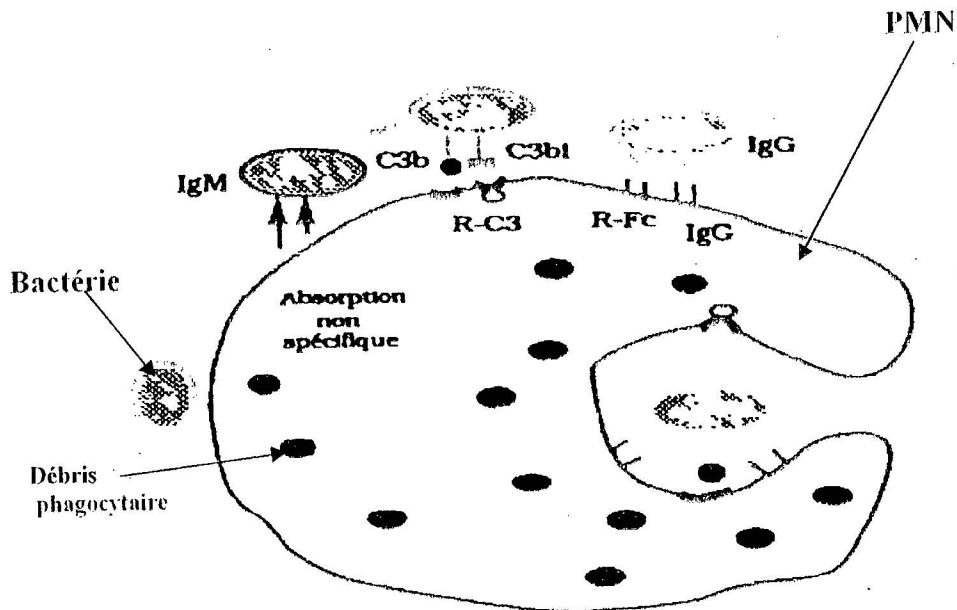


Figure 14: Reconnaissance et ingestion des bactéries par un PMN (d'après Rainard,(1991).

c. Activité bactéricide :

L'adhérence des bactéries aux polynucléaires s'accompagne d'une stimulation de l'activité bactéricide de ces cellules. Déclenchée par l'interaction des récepteurs membranaires et les opsonines, la phagocytose commence par l'invagination de la membrane plasmique avec formation d'un phagosome, puis il y a déversement du contenu des lysosomes au contact des bactéries phagocytées. Ensuite deux systèmes agissent pour l'ingestion des bactéries :

1. Le système oxygène-dépendant qui produit plusieurs composés actifs de l'oxygène avec un pouvoir oxydant violent :
 - les radicaux libres,
 - l'hydroperoxyde hypochlorite,
 - et l'hydrogène peroxyde.
2. Le système non oxygène-dépendant impliquant des protéines bactéricides et plusieurs enzymes :
 - la peroxydase,
 - les enzymes hydrolytiques.

Un pH élevé favorise l'activité enzymatique du phagosome (Craven et Williams, 1985; Rainard,1991).

d. Contrôle de l'activité :

Les PMN sont soumises à un réseau complexe de stimulations et d'inhibitions régulant leur activité.

Ces facteurs de contrôle sont représentés par :

- Les cytokines (l'interféron, et l'interleukine 1) qui ont une :
 - une action directe en stimulant leur métabolisme respiratoire.
 - une action indirecte, en stimulant les cellules endothéliales. Ces dernières permettent l'adhésion puis la diapédèse des PMN.
- Les macrophages agissent sur les PMN par l'intermédiaire des interférons, des interleukines 1 et 8, des peptides et des monokines (Djabri, 1999).

- Les lymphocytes T peuvent agir également sur les PMN directement ou indirectement par l'intermédiaire des macrophages (Rainard, 1991).

Dans le lait, les PMN trouvent des conditions peu favorables :

- une pression partielle d'oxygène cent fois plus faible que celle dans le sang,
- une concentration pauvre en glucose, à partir duquel ils tirent leur énergie,
- une capacité phagocytaire réduite due à une ingestion de la caséine et des globules gras (Craven et Williams, 1985 ; Rainard, 1991).

I.3.1.2. Rôle des macrophages :

Comme les polynucléaires, les macrophages interviennent dans le mécanisme de défense phagocytaire en ingérant les bactéries et les débris cellulaires. Leur activité peut être élevée en présence d'opsonines (anticorps et complément). Outre leur activité dans l'immunité non spécifique de la mamelle, les macrophages jouent un rôle important dans les processus de l'immunité spécifique ; les antigènes (Ag) ingérés sont présentés à la surface des macrophages complexés au CMH classe 2 (complexe majeur d'histocompatibilité de classe 2). Ces complexes Ag-CMH sont reconnus par les lymphocytes T qui synthétisent à leur tour des anticorps spécifiques pour ces antigènes (Craven et Williams, 1985; Rainard, 1991; Sordillo et al., 1997).

I.3.2. Défenses non phagocytaires :

Les défenses non phagocytaires à médiation cellulaire impliquent les lymphocytes qui sont présents à tous les stades de lactation.

Il existe plusieurs types de lymphocytes dont les rôles sont différents (Sordillo et al., 1997):

- Les lymphocytes T helper produisent des cytokines en réponse à la reconnaissance du complexe Ag-Ac (Antigène-Anticorps) ou Ag-CMH présentés par les macrophages ou les lymphocytes B. Ces cytokines jouent un rôle important dans l'activation des lymphocytes T, des lymphocytes B, des macrophages et différentes autres cellules de l'immunité.
- Les lymphocytes T suppresseurs sécrètent aussi des cytokines capables d'éliminer les cellules altérées, vieilles ou endommagées par l'intermédiaire des molécules du CMH. Leur rôle est de contrôler ou de moduler la réponse immunitaire.
- Les lymphocytes T α et β ont pour fonction biologique la protection des surfaces épithéliales. Ils sont capables, d'une part de détruire les cellules altérées par une activité cytotoxique et d'autre part de soutenir l'activité des cellules tueuses naturelles.
- Les lymphocytes B produisent et sécrètent les anticorps dirigés contre les agents pathogènes invasifs. Comme les macrophages et les polynucléaires, les lymphocytes B utilisent leurs récepteurs pour reconnaître les antigènes spécifiques. Ils sont aussi capables de présenter le complexe Ag-CMH à leurs surfaces aux lymphocytes T helper qui sécrètent les interleukines 2 activant ainsi à leur tour la prolifération et la différenciation des lymphocytes B.
- Les cellules tueuses naturelles contiennent des récepteurs pour le fragment Fc des anticorps leur permettant de participer dans les réactions anticorps-dépendantes. Le complexe (cellules tueuses – Ac – cellules cibles) ainsi formé les stimule à déverser le contenu de leurs granules (la perforine). Elles sont capables aussi de sécréter des molécules toxiques et d'agir aussi bien sur les bactéries à Gram + que celles à Gram –.

II. CONSÉQUENCES DE LA CONCENTRATION EN CELLULES SOMATIQUES :

La concentration cellulaire d'un lait normal, issu d'une vache non infectée, est inférieure à 100 000 cellules somatiques par millilitre et ne dépasse rarement le seuil des 300 000 cellules (Serieys, 1985).

Néanmoins, des modifications de la production laitière et de la composition du lait, apparaissent dès que le taux cellulaire atteint 60 à 80.000 cellules par ml, taux considéré habituellement comme très

faible (Badinaud, 1994). Elles sont importantes lorsqu'on passe de 100 000 à 200 000 cellules par ml encore plus de 200 000 à 400 000 cellules par ml et plus (Serieys, 1985b) (cf. figure.15).

Un taux cellulaire élevé traduit toujours une inflammation de la mamelle. Les acini sont, dans presque tous les cas, touchés de telle sorte que la sécrétion est perturbée.

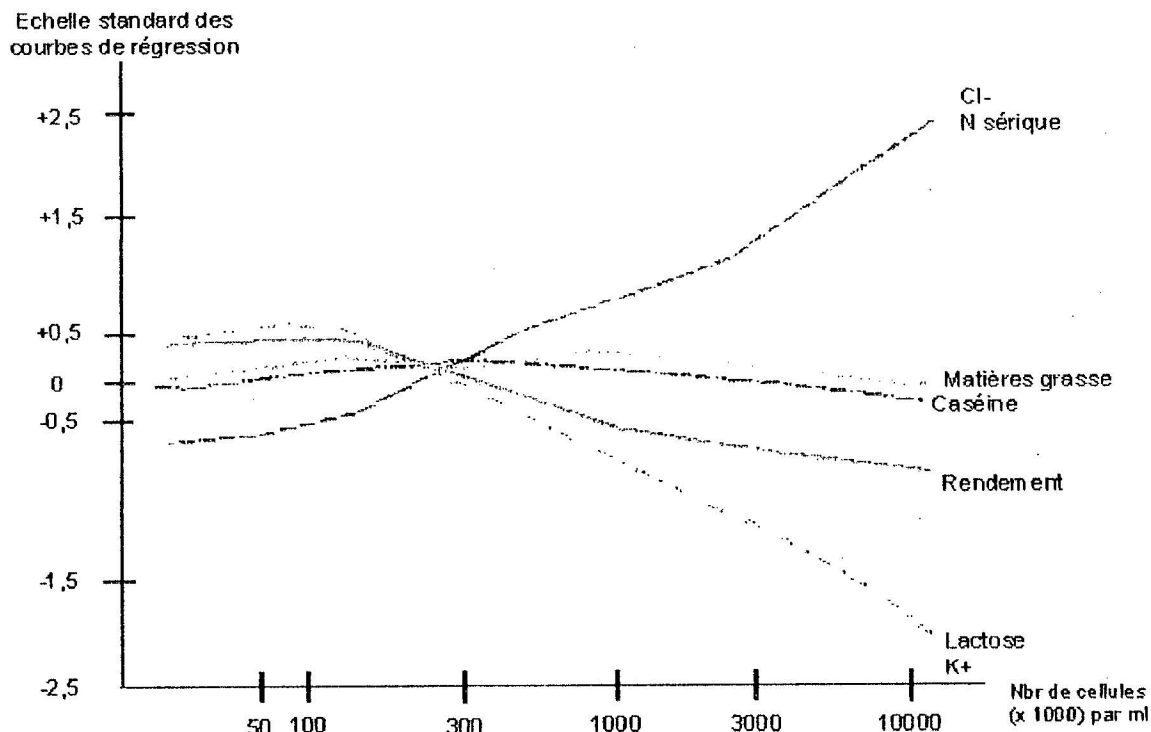


Figure 15 : Composition du lait en fonction de son taux cellulaire (d'après Badinaud, 1994).

II.1. Conséquences sur la production laitière :

Il semble que l'épithélium sécrétoire de la glande mammaire soit dégradé par la migration des PMN du sang vers le lait ainsi que par les substances toxiques et les enzymes qu'elles libèrent (Paape et al, 1999). Il en résulte une baisse de synthèse de la glande mammaire, d'autant plus prononcée que l'inflammation est importante et durable (Serieys et al, 1987 ; De Clermont, 1992 ; Hortet et Seegers, 1998). Ces pertes, en quantité, peuvent varier de 6 à 25% (% en lactation) respectivement pour des concentrations cellulaires de 150 à 400 000 cellules / ml et au delà de 2 000 000 cellules / ml (Radostitis et Blood, 1985).

Les travaux de Le Roux (1999) rapportent une perte de production d'un troupeau à :

- 4% pour un taux cellulaire de 400 000 cell/ml,
- 6% pour 600 000 cell/ml,
- 8% pour 800 000 cell/ml.

En se basant sur l'établissement d'un score linéaire de 0 à 9 correspondant aux taux cellulaires médians de 12.5 à 6400 10^3 cellules/ml les pertes estimées en lait d'après Raubertas et Shook, (1982) pour une lactation standard (305 jours) sont de :

- 100 à 700 litres pour les primipares,
- 200 à 1 400 litres pour les pluripares (cf. tableau VII).

Tableau VII : Relation entre le score linéaire (LS), le CCI et les pertes en lait (Raubertas et Shook, 1982).

S	CCI 1000	x	Médiane	Pertes (litres/jour)		Pertes (litres /lactation)	
				Primipare	pluripares	Primipare	pluripares
0	0-17		12.5	-	-	-	-
1	18-34		25	-	-	-	-
2	35-68		50	-	-	-	-
3	69 – 136		100	0.75	1.5	100	200
4	137 – 273		200	1.5	3	200	400
5	274 – 546		400	2.25	4.5	300	600
6	547 – 1092		800	3	6	400	800
7	1093 – 2185		1600	3.75	7.5	500	1000
8	2186 – 4371		3200	4.5	9	600	1200
9	>=4372		6400	5.25	10.5	700	1400

II.2. Conséquences sur la composition du lait :

Le passage, à travers l'épithélium sécrétoire, d'un taux élevé de leucocytes du sang vers le lait et du processus inflammatoire qui l'accompagne en général contribuent à augmenter la perméabilité vasculaire et tissulaire de la glande mammaire (Rupp, 2000). Cette perméabilité accrue favorise le passage d'éléments d'origine sanguine dans le lait et la composition chimique du lait peut en être considérablement modifiée, selon l'intensité et la durée de l'inflammation. Il en résulte une importante dégradation des paramètres technologiques, une baisse des rendements fromagers et des qualités organoleptiques et une moindre durée de stockage du lait U.H.T (Auld et al, 1996).

Les modifications des principaux composants (lactose, matières grasses, matières protéiques, minéraux) ont été particulièrement étudiées chez la vache (Serieys et al, 1987 ; Harmoun, 1994 ; Seegers et al, 1997b ; Hortet et Seegers, 1998).

II.2.1. Le lactose:

La teneur en lactose est fortement diminuée et semble être la résultante de la diminution de la capacité de synthèse de la mamelle en cas d'infections (Munro et al, 1984 ; Rupp, 2000). Cette baisse débute à des concentrations cellulaires comprises entre 100 000 et 300 000 cellules/ml. Elle est compensée par l'augmentation de celle des chlores dans le but de maintenir la pression osmotique (Rupp, 2000).

II.2.2. La matière grasse :

La teneur du lait en matière grasse est seulement réduite selon Hortet et Seegers (1998), significativement diminuée d'après Serieys (1995).

Cette baisse s'accompagne d'une augmentation de la teneur en acides gras libres. Ce qui pourrait résulter, à la fois d'un lait contenant plus de lipase provenant de leucocytes endommagés mais également de l'arrivée d'activateurs venant du sang (Serieys, 1995), et d'une augmentation de la fragilité de la membranes des globules gras (Serieys et al, 1987).

La lipolyse induite (dégradation de 1g/l de matière grasse) n'est significative qu'à partir d'un taux de 1 000 000 cell/ml (Roguinsky, 1978).

II.2.3. Les matières protéiques :

II.2.3.1. Les protéines coagulables (caséines) :

En effet, le lait d'une mamelle infectée contient une quantité importante d'enzymes d'origine diverses (sang, cellules épithéliales endommagées, leucocytes et éventuellement bactéries).

Rupp (2000) rapporte l'augmentation, particulière et importante de la plasmine et des protéases, susceptible d'expliquer une grande partie de la modification de la concentration en caséines dans le lait. Cependant, les enzymes des leucocytes semblent également jouer un rôle dans la lyse des caséines.

Suite à des infections expérimentales par *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, Michelutti et al (1999) rapportent une séquentialité de la protéolyse des caséines par les enzymes des cellules somatiques dans l'ordre suivant : $\alpha_s > \beta >> \kappa$, conduisant à la formation de protéose-péptones. La protéolyse des caséines serait la résultante de mécanismes impliquant l'activité de la plasmine et des enzymes des cellules somatiques en proportion variable en fonction du temps.

L'augmentation de l'activité de type plasmine est directement proportionnelle à la concentration cellulaire donc aux activateurs de plasminogène des leucocytes (Heegaard et al, 1994 ; Verdi et al, 1991 ; Zachos et al, 1992).

La teneur en protéines coagulables est nettement diminuée lorsque la concentration cellulaire est supérieure à 400 000 cell/ml. Les modifications en teneur observées se résument à une augmentation significative des caséines γ (peptide issue de la protéolyse) directement proportionnelle à la diminution des caséines β (Le Roux, 1994) (cf. tableau VIII).

Tableau VIII: Variation de la composition en caséines de laits de tank en fonction de leurs concentrations cellulaires (Le Roux, 1994).

Protéines coagulables	Taux cellulaire de tank (x1000cell/ml)		
	< 200 (n = 14)	200-400 (n = 11)	>400 (n = 15)
Caséines α_s	51,22	52,15	52,65
Caséines β	33,65 ^a	32,93 ^{ab}	31,79 ^b
Caséines κ	9,95	9,12	8,61
Caséines* γ	5,03 ^a	5,80 ^{ab}	6,95 ^b

* : peptides précipitant avec les caséines et également appelés peptides insolubles à pH 4,6.

^a, ^b : valeurs significativement différentes à $p=0,05$.

II.2.3.2. Les protéines solubles :

La teneur en protéines solubles synthétisées localement (α -lactalbumine) diminue fortement.

Selon Serieys (1995), Le Roux (1999) et Rupp (2000), cette diminution est compensée par l'afflux important de protéines d'origines sanguines, telles que les immunoglobulines de la classe G, le sérumalbumine, et la transferrine, entraînant une augmentation globale de la concentration en protéines solubles d'où un taux protéique du lait peu modifié.

En revanche Rainad (1983) et Auld et al (1996) ont rapporté, que suite au processus protéolytique impliquant les plasmines; l'augmentation de la teneur en protéines solubles est variable. Celle des protéines totales est peu variable et est en relation avec la diminution de la teneur en caséines qui elle dépend de la variation de la concentration cellulaire (Munro et al, 1984).

Le Roux (1999) rapporte une teneur en:

- protéines solubles de :
 - 6,9 g/l pour les taux cellulaires inférieures à 100 000 cell/ml,
 - 8,0 g/l pour les taux cellulaires entre 100 000 et 300 000 cell/ml,
 - 9,3 g/l pour les taux cellulaires supérieures à 600 000 cell/ml.
- protéines totales de :
 - 36,1 g/l pour les taux cellulaires inférieurs à 250 000 cell/ml.
 - 35,9 g/l pour les taux cellulaires supérieurs à 1 000 000 cell/ml.

II.2.4. Les Minéraux :

La composition du lait en minéraux est également modifiée (Serieys, 1995). Les teneurs en potassium, calcium et phosphore diminuent. Pour ces deux derniers, cette baisse semble être en relation avec celle des constituants auxquels ils sont complexés, comme par exemple la caséine (Rupp, 2000).

Par contre, la teneur en chlore et en sodium d'origine sanguine augmente (Serieys, 1995). Les travaux de Le Roux (1999) rapportent des teneurs de l'ordre de :

- 1,33 g/l pour des concentrations cellulaires inférieures à 100 000 cell/ml,
- 1,59 g/l pour des concentrations comprises entre 100.000 et 300.000 cell/ml,
- 1,73 g/l pour des valeurs comprises entre 300 000 et 600 000 cell/ml,
- 1,88 g/l et plus pour des concentrations supérieures à 600 000 cell/ml.

III. IMPORTANCE DES CONCENTRATIONS CELLULAIRES DU LAIT :

La qualité hygiénique du lait est appréciée par un certain nombre de critères :

- directs, comme la recherche de substances potentiellement toxiques ou de bactéries qui peuvent être pathogènes pour le consommateur,
- indirects, comme la mise en évidence des cellules somatiques (intérêt du nombre minimum).

La présence des cellules somatiques ne présente, elle même, aucun pouvoir pathogène ou toxique mais elle est le signe révélateur d'existence de germes ou de produits indésirables (Badinand, 1994).

Leur numération est un élément précieux pour :

- Le paiement et contrôle de l'hygiène du lait.
- Le diagnostic du type épidémiologique d'infection touchant les animaux atteints de mammites dans un troupeau.
- La gestion du troupeau laitier.

II.1. Sur le plan hygiénique et sanitaire :

La concentration cellulaire reste a priori ; un très bon indicateur de l'état sanitaire des pis et par conséquent l'état hygiénique et qualitatif du lait produit. En effet, elle peut renseigner sur la présence des :

- Bactéries pathogènes.
- Résidus d'antibiotiques.

III.1.1. Bactéries potentiellement pathogènes :

Les contaminations bactériennes transmises par le lait à l'homme sont nombreuses. Les principaux germes transmis sont *Escherchia coli*, *Staphylococcus aureus*, les streptocoques, *Listeria monocytogènes* et les salmonelles.

D'autres sont moins fréquentes, néanmoins, elles ne sont pas de moindre importance : *Brucella*, *Coxiella*, *Chlamydia*, et *Campylobacter*.

Chez la vache, Les espèces bactériennes les plus fréquentes lors d'infections intra mammaires entraînant des concentrations cellulaires élevées avec une incidence directe sur la santé humaines sont les *staphylocoques* et *streptocoques*. Leurs transmissions peuvent avoir deux origines (Casamitjana, 1999) :

- o mammaire pour les germes dits de réservoirs,
- o extra mammaire pour les germes d'environnement.

Selon Badinaud (1994), les numérations cellulaires à taux supérieurs à 800 000 cellules/ml, pouvant atteindre les 10 millions de cellules par ml, signifie essentiellement une infection de la mamelle par des bactéries Gram (+) de type *Staphylococcus aureus* ; *Streptococcus agalactiae*, *dysgalactiae* et *uberis*).

Serieys (1985) rapporte aussi que le taux cellulaire reflète l'importance particulière des infections subcliniques par ces mêmes germes reconnus pour leur persistance dans les mamelles réservoirs.

La présence de tels germes pathogènes dans le lait peut avoir une incidence assez grave sur la santé du consommateur.

III.1.1.1. Les staphylocoques (*staphylococcus aureus*) :

Environ 10% des *staphylococcus aureus* responsable de mammites bovine produisent une entérotoxine thermostable (Beens et Luquet, 1987). Certaines souches toxigènes de *staphylococcus aureus* isolées du lait cru produisent souvent l'entérotoxine C et/ou D. Ces entérotoxines peuvent provoquer chez l'homme des troubles nerveux, digestif et posent un problème pour l'hygiène alimentaire (Rainard, 1979).

III.1.1.2. Les streptocoques :

Certaines souches de streptocoques, responsable de mammite bovines, provoquent chez l'espèce humaine divers maladies, telles que les méningites, l'endocardite et l'ostéomyélite (Ghazi, 1999) *Streptococcus agalactiae*, a été découvert dans certaines infections du tractus urinaire chez la femme, et responsable chez les nouveau nées des méningites mortelles (Rainard, 1979).

Les rougeurs épidermiques de la scarlatine et inflammation septiques de la gorge sont les résultats de la consommation d'un lait cru issu de vache infectées par streptococcies pyogène (Heidrich et Renk, 1967 ; Shalm et Noorlander, 1957).

III.1.2. Résidus de produits du traitement :

En effet, la présence de taux cellulaires élevés lors de suivi mensuel sur lait de tank indique un taux élevé d'infections intra-mammaire. Selon Serieys (1985a), le taux de quartiers infectés d'un troupeau pourrait atteindre 25 % pour des CCS de 800 000 cellules/ml, révélateur d'une utilisation fréquente de produits anti-infectieux.

Chez le consommateur, La présence de résidus de produits de traitements (antibiotiques et autres) est plus gênante que la présence d'agents infectieux. Elle est responsable de l'apparition de souches bactériennes antibio-résistantes, et peut déclencher des allergies (Rainard, 1979).

III.2. Sur le plan économique :

Les effets économiques de l'élévation de la concentration cellulaire totale se traduisent par la réduction de l'efficacité économique globale de production (Seegers et al, 1999). Les mécanismes de cet effet relèvent de deux composantes principales :

- o coût de maîtrise (1),
- o pertes (2).

(1). Les coûts de maîtrise des infections intra - mammaires (subcliniques et surtout cliniques) correspondant aux charges liées à la mise en œuvre des traitements et de mesures préventives sont variables : prise en charge médicale, zootechnique ou hygiénique (Seegers et al, 1994) .

(2). Les pertes c'est à dire « le manque à gagner » selon Seegers et al (1999), correspond aux :

- o Pénalités ou pertes de prime de qualité du lait.
- o Effets économiques de la moindre productivité des vaches en quantité et qualité.
- o Effets associés aux mortalités et réformes supplémentaires ainsi qu'éventuellement au ralentissement du progrès génétique.
- o Coûts de production d'un volume de lait non commercialisable (écarté à cause de traitement en lactation).
- o Voire en situation extrême, perte totale du produit s'il y a arrêt totale de collecte.

III.2.1- Pertes liées au paiement à la qualité :

La teneur en cellules somatiques du lait de tank est dans de nombreux pays un élément d'appréciation de la qualité du lait pris en compte à la fois sur le plan réglementaire et pour le paiement du lait aux producteurs.

Le critère « cellules » repose sur l'adoption des seuils présentant une meilleure marge de sécurité :

- o moins de 250.000 cell/ml pour des laits de bonne qualité,
- o entre 250 000 et 400 000 cell/ml de moins bonne qualité.
- o plus de 400.000 cell/ml pour la plus mauvaise et lait impropre à la consommation.

Ce qui permet de classer le lait de très bonne à moins bonne qualité : super A, reste du A, B et C. Le lait sera dès lors payé par point pénalisant les laits à plus de 400.000 cell /ml voir même interdiction de collecte si la moyenne géométrique de 3 mois consécutifs est > 400.000 cell/ml (Beguin, 1994, Le Roux, 1999).

Selon (Le Roux,1999), les normes de paiement utilisé en Europe sont :

Numération cellulaire (cell/ml)	Prime ou pénalité au litre de lait
> 400.000	- 6 cts
> 250.000 et <400.000	0 cts
< 250.000	+ 2 cts

Le calcul des pertes financières liées au paiement de la qualité reposent sur les résultats mensuels en matière de numération cellulaire du lait tank (Seegers et al.,1999).

En Angleterre :

- o Hill (1991) rapporte que 66% des producteurs sont bénéficiaires de primes et 25 % n'encourent aucune pénalité alors que 9% sont pénalisés pour des concentrations cellulaires de 400 000 à 1 000 000 cell/ml et plus.
- o Nielen et al (1991) rapportent que 2/3 des troupeaux ont un taux cellulaire de tank compris entre 200 000 et 600 000 cell /ml avec 7 % d'entre eux ayant un taux supérieur à 1 000 000 cell/ml.

A partir de ces chiffres, un éleveur ayant une production moyenne de 2000 litres/jours ; la perte financière selon le critère « cellules » pour un taux trimestriel > à 1 000 000 cell/ml serait de : $2000 \times 6\text{cts} \times 90 = 108\ 000\ \text{cts}$.

III.2.2. Pertes liées a la diminution de productivité :

A coté des coûts dus aux pertes liées au paiement, s'ajoute l'effet économique de la moindre productivité des vaches en quantité et en qualité. Les pertes peuvent être estimées par l'utilisation d'une démarche normative, modèle adopté par plusieurs auteurs (Seegers et al., 1999 ; Matlaah, et al., 2000 et professionnels de la SNGTV France), qui révèle une perte de 2 % en lait par tranche de 100 000 cellules au delà d'un taux > à 200.000 cellules/ml selon la formule suivante :

$$P (\%) = (NCT - 200.000) / 100.000 \times 0,02$$

(P = perte ; NCT = numération cellulaire de tank).

Ces pertes sont de l'ordre de 4 % , 6 % et 8 %, pour des concentrations cellulaires de 400 000, 600 000 et 800 000 cell/ml respectivement (Le Roux, 1999). Ceci entraîne un surcroît des coûts de production pour un litre de lait non produit.

Pour un élevage de 100 vaches ayant une production de 5 000 litres avec un taux cellulaire de 300 000 cell/ml, Seegers et al (1999) estiment ce coût à 5 000 F, soit 0,50 F par litre de lait non produit

Les pertes relatives à la composition du lait en matières utiles peuvent être aussi estimées par l'adoption de modèles statistiques.

Selon Mathieu (1985), Matlaah ,et al., 2000 utilisant l'équation de régression linéaire, les pertes en matières protéiques sont estimées par le rapport : caséines / matières azotées à :

$$C / MAT = -2,06 \log (NCT) + 89,47$$

(C = caséines du lait , MAT = matière azotée , NCT = numération cellulaire de tank)

La diminution de ce rapport débute vers 200 à 300.000 cell/ml et les pertes financières seront d'autant plus importantes pour des concentrations supérieures à 1 000 000 cell/ml.

Selon le modèle de Roguinsky (1978), Matlaah, et al., 2000 les pertes de matières grasses sont estimées à :

$$P = \frac{NCT}{1000.000 \text{ cell/ml}}$$

P = perte de matière grasse (g/l), NCT = numération cellulaire de tank .

Néanmoins, les pertes ne sont significatives (1g/l) qu'à partir des concentrations cellulaires supérieures à 1 000 000 cell/ml.

III.2.3. Pertes liées aux réformes :

Les numérations cellulaires ont un intérêt précieux pour la mise en place d'un plan de lutte contre les mammites, surtout celles qui passent inaperçues pour l'éleveur, donc les subcliniques.

Dans un troupeau où 5 % des animaux peuvent présenter des numérations supérieures à 800 000 cellules /ml ,80 % peuvent être guéris lors du tarissement. L'effectif restant (20 %) correspondant à 1 % du troupeau représenté les vaches incurables qui doivent être reformées (Seegers et al, 1999).

A partir des concentrations cellulaires individuelles (CCI), Faroult (1994) rapporte que les animaux classés infectés de façon permanente (au moins deux CCI > 800 000 cell/ml) ou douteux (CCI > 300 000 cell/ml) en fin de lactation doivent présenter des CCI < 300 000 cell/ml la lactation suivante. Le cas contraire témoignera d'une non guérison ou d'une réinfection et la décision de réforme doit être envisagée.

Selon Le Roux (1999), il faut prévoir de nombreuses réformes devant des taux cellulaires moyens de lait de tank supérieurs à 600 000 cell/ml.

A partir des CCIM et des CCI, peuvent s'établir des règles de décision permettant d'éliminer une source d'infection permanente (vaches durablement infectées) d'une part ,et de diminuer ainsi des dépenses et des charges pour des animaux moins productifs (traitement , alimentation, main d'œuvre....).

III.3. Sur le plan génétique :

L'héritabilité des numérations cellulaires (0,17) est très nettement supérieure à celle des mammites cliniques(0,02) et la corrélation génétique entre ces deux caractères est positive et forte(0,72). Une sélection génétique en vue de diminuer les numérations cellulaires apparaît donc pertinente pour augmenter la résistance aux mammites cliniques et sub-cliniques.

Les travaux de RUPP et al (2001), sur la base des tranches cellulaires, montrent que les vaches avec CCI :

- initial, < à 35 000 cellules/ml, présentent le risque le plus faible d'occurrence d'une mammite clinique en 1^{ère} et 2^{ème} lactation.
- compris entre 75 000 et 215 000 cellules/ml conduisent au risque maximal d'occurrence d'une mammite clinique.

Les résultats de cette étude suggèrent qu'une sélection pour diminuer les numérations cellulaires devrait réduire la fréquence des mammites cliniques et que l'objectif de la sélection doit favoriser les vaches avec les CCS les plus faibles ce qui permet d'envisager de diminuer les CCS dans le lait par sélection.

CHAPITRE.III :

I. METHODES DE MESURE DE LA CONCENTRATION EN CELLULES SOMATIQUES :

La numération ou comptage des cellules somatiques du lait (CCS) peut être réaliser par les méthodes d'analyses :

- o directes (microscopie, Coulter, fossomatic) du lait appliquées dans les laboratoires des laiteries selon les normes internationales de la Fédération Internationale de Laiteries (FIL norme 148 a : 1995, IDF, 1995),
- o indirectes tel que les tests CMT (California Mastitis test) et catalase (Hanzen, 2000).

I.1. Méthodes directes :

I.1.1. Numération par microscopie :

C'est la méthode de référence ou de Prescott et Breed (1910) qui consiste en le dénombrement des cellules somatiques du lait ; cellules dont le noyau est distinctement coloré par le bleu de méthylène (toutes les cellules leucocytaires et les cellules épithéliales). Elle utilise le comptage visuel sur une lame spéciale appelée lame de BREED.

Suite à la difficulté de mise en œuvre, elle a été délaissée au profit du comptage électronique, plus rapide (Badinaud, 1994). Selon Leray (1999) la répétabilité des résultats obtenus par cette méthode est de :

- 23,5% avec un écart entre deux déterminations dans un même échantillon de 30×10^3 pour des concentrations cellulaires $< 2,5 \times 10^5$ cellules.
- 12,4% avec un écart entre deux déterminations de 60×10^3 pour des concentrations cellulaires entre $2,5$ et $7,5 \times 10^5$.
- 9,4% avec un écart entre deux déterminations dans un même échantillon de 169×10^3 pour des concentrations cellulaires $> 7,5 \times 10^5$

I.1.2. Numération par Coulter:

C'est une méthode de dénombrement des cellules somatiques contenues dans le lait ; particules dénombrées par un compteur électronique, après détermination d'un seuil et élimination dans l'échantillon des globules gras dont la taille excède l'intervalle des tailles des cellules.

a. Historique de la méthode :

Les premières études relatives au comptage de cellules somatiques remontent à 1965 (Cullen, 1965). Toutefois, les premiers travaux utilisant le « Coulter counter, modèle A » ont été réalisés par Grappin et Jeunet (1971).

Le Coulter counter, initialement conçu pour la numération des cellules sanguines, a été utilisé pour la détermination du nombre de cellules dans le lait, néanmoins la précision du dénombrement était insuffisante (Schipper et al., 1968 ; Zeilder et al., 1968b ; Read JR et al., 1969a).

Suite aux travaux de Tolle (1966), qui par traitement chimique a permis une très bonne dispersion des globules gras, en suspension dans le lait, qui interfèrent avec les cellules lors des comptages, cet appareil a acquis une bonne exactitude.

Cette méthode, standardisée par l'introduction de deux produits (somafix et somaton) par Harfield (1973) a été normalisée (FIL 148a :1995,IDF, 1995).

Dans ces applications, le compteur électronique de particules est rapide et économique (Leray ,1999). La technique de préparation des échantillons et le comptage sont des opérations qui ne nécessitent pas une grande technicité de la part de l'opérateur (Grappin et al, 1971). Sa cadence d'analyses est d'environ 100 échantillons par heure.

En plus du comptage des cellules somatiques, son utilisation, dans le domaine laitier, consiste en le dénombrement des particules ainsi qu'à la détermination de leurs dimensions, donc :

- Le dénombrement des germes dans le lait ;
- L'analyse granulométrique des poudres du lait ;
- Le dénombrement des bactéries lactiques dans les levains ;
- La détermination du diamètre des globules gras dans le lait homogénéisé.

La répétabilité des résultats obtenue par cette méthode selon Grapin et Jeunet (1973) in Leray (1999) est de l'ordre de:

- 5,3% pour des concentrations cellulaires $< 2,5 \times 10^5$ cellules et l'écart entre deux déterminations sur un même échantillon est de $1,1 \times 10^3$.
- 3,2% à 4,1% pour des concentrations cellulaires comprises entre $2,5$ et $7,5 \times 10^5$ et l'écart entre deux déterminations est voisin de 16×10^3 dans 95% des cas
- 2,3% pour des concentrations cellulaires $> 7,5 \times 10^5$ et l'écart entre deux déterminations est de 24×10^3 .

Read et al (1969) et Dijkman (1969) trouvent respectivement comme reproductibilité entre dilution des coefficients de variation de 2,8% et 7,8%. Quant à Pearson et al (1970a) ils obtiennent une très bonne répétabilité des résultats avec des coefficients de variation allant de 2,5% à 0,9% lorsque le nombre de cellules du lait passe de 4×10^5 à $1,4 \times 10^6$ /ml.

I.1.3. Numération par Fossomatic (méthode fluoro-opto électronique) :

Le principe de la société Foss Electric relatif à la méthode fluoro-opto-électronique a été mis en application pour le comptage des cellules somatiques du lait par Grappin et Jeunet (1974) à l'aide du Fossomatic 180.

Elle consiste en la détermination de la concentration en cellules somatiques dans le lait.

L'appareil fonctionne selon le principe optique de la fluorescence. L'échantillon de lait à analyser est mélangé en premier lieu avec une solution tampon (solution à base de bromure d'éthidium ou à base de polyéthylène glycol mono-éther) puis avec une solution colorante.

Ce mélange est transféré sous forme de film fin sur un disque rotatif servant de plan au microscope. Les cellules sont séparées de manière dynamique et exposées à un rayonnement spécifique du colorant (lumière bleue, 400-530 nm). En effet le système fossomatic suppose la coloration spécifique de l'ADN par les colorants fluorescents. La fluorescence rouge ainsi émise dans l'ultraviolet est proportionnelle à l'ADN du noyau. Un photomultiplicateur capte le signal fluorescent émis par les cellules et le transforme en signal électrique, donc l'impulsion électrique produite par chaque cellule colorée est amplifiée et enregistrée. Ce système ne détecte à peu près que les cellules inflammatoires puisque les amas de caséine et les particules inertes ne fixent pas le bromure d'éthidium (Hanzen, 2000). Il permet l'analyse de 180 prélèvements de lait par heure.

Si les échantillons ne sont pas examinés dans les 24 heures qui suivent la traite, il faut les additionner avec des agents conservateurs qui peuvent être de l'acide borique, du bichromate de potassium, du bronopol ou de l'azide de sodium.

La répétabilité des résultats obtenus par cette méthode diffère selon le type d'appareillage utilisé. Leray (1999) rapporte que pour des comptages par les fossomatic 180, 215, 5000 la répétabilité est de l'ordre de :

- 4,7%, 8,9%, 6,9% et avec des écarts entre deux déterminations de 7%, 13% et 6% respectivement pour des concentrations cellulaires $< 2,5 \times 10^5$
- 3,3%, 3,7%, 2,1% et avec des écarts entre deux déterminations de 15%, 19,6% et 11% respectivement pour des concentrations cellulaires entre $2,5$ et $7,5 \times 10^5$
- 2,5%, 3% et 1,8% et avec des écarts entre deux déterminations de 27%, 36% et 26% respectivement pour des concentrations cellulaires $> 7,5 \times 10^5$.

Selon ce même auteur le fossomatic est moins adapté aux besoins des grandes séries du fait de son encombrement important. De plus, il est difficilement adaptable en ligne avec d'autres appareils d'analyse de la composition du lait.

Le fossomatic semble être plus spécifique que le compteur Coulter parce qu'il néglige les poussières et particules diverses qui peuvent se mêler à l'échantillon lors de son prélèvement et ne compte que les cellules à noyau (Hanzen, 2000)

I.2. Méthodes indirectes:

Parmi les nombreuses méthodes indirectes d'appréciation du nombre de cellules du lait (Hanzen, 2000), on distingue :

- o Celles, basées sur la réaction de gélification induite par l'addition d'un détergent ou d'un alcalin (test de Whiteside, Californian mastitis test et dérivés).
- o Le test de la catalase,
- o Les méthodes colorimétriques (réaction Feulgen positif).

Les méthodes de mesure directe permettent d'avoir des résultats précis mais nécessitent un laboratoire ; à l'inverse, certaines méthodes indirectes, d'appréciations, peuvent être mises en œuvre à l'étable tel le CMT (Badinaud, 1994).

Le Californian Mastitis test (CMT) reste le test le plus pratique et le plus répandu. Il sera le seul décrit dans ce chapitre.

I.2.1 Le Californian Mastitis test:

Le CMT encore appelé Schalm & Noorlander (1957) est une technique d'estimation de la concentration cellulaire, mesurée par l'intermédiaire d'une réaction de gélification qui est en rapport avec la quantité d'ADN présent et par conséquent avec le nombre de cellules (Poutrel et al, 1999)

Le mélange à parties égales d'un agent tensioactif (solution de Na-Teepol renfermant 96g de Na-Lauryl-Sulfate / 5 litres) et de lait provoque la lyse des cellules du lait et la libération de l'ADN de leurs noyaux. L'ADN, constitué de longs filaments, forme alors un réseau qui enrobe les globules gras ainsi que d'autres particules.

Plus les cellules sont nombreuses, plus le réseau est dense et plus l'aspect de flocculât pris par le mélange est intense. L'addition au Teepol d'un indicateur de pH coloré (pourpre de bromocrésol) facilite la lecture de la réaction.

Après lavage, essuyage et extraction des premiers jets de lait des trayons, l'opérateur remplit chaque coupelle d'un plateau qui en comporte quatre, avec 2ml de lait et 2ml de teepol à 10% (une coupelle par trayon). La lecture est immédiate après mélange des deux liquides par mouvement de rotation du plateau dans un plan horizontal.

L'interprétation des résultats s'effectue selon la grille de notation établie par Schalm et Noorlander (1957) et Schneider et al (1966) (cf. tableau IX).

De plus, il ne doit pas être réalisé sur le colostrum ou la sécrétion de période sèche. (Hanzen, 2000).

Tableau IX: Correspondance entre la note du CMT et la numération cellulaire du lait (d'après Schalm et al, 1957 ; Schneider,1966)

Note du CMT	Nombre de cellules($\times 10^3$) par ml	
	Moyenne	Extrêmes
0 ou -	100	0 - 200
1 ou +/-	300	150 - 600
2 ou +	900	400 - 2700
3 ou ++	2700	800 - 8000
4 ou +++	8100	5000 et plus

Le CMT, lorsqu'il est réalisé régulièrement, présente les mêmes indications que le comptage cellulaire individuel. Il a aussi l'avantage, par rapport à ce dernier, d'être moins coûteux, de pouvoir être pratiqué par l'éleveur et de délivrer une image plus précise des infections en donnant des résultats quartier par quartier.

Il a par ailleurs une valeur ponctuelle comme complément de la détermination du taux cellulaire lorsqu'il s'agit de décider de la réforme d'un animal ou du traitement spécifique de l'un ou l'autre quartier. Il permet également de vérifier la guérison de l'animal (Hansen, 2000).

Enfin, il permet de déterminer l'importance des pertes de production laitière (Radostitis et Blood, 1985 in Hansen, 2000).

II. METHODES STATISTIQUES D'ETUDE DES VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN CELLULES SOMATIQUES :

L'identification des facteurs de variation de la concentration en cellules somatiques du lait et la quantification de leur effet reposent sur la mise en relation d'une variable quantitative à expliquer (la concentration en cellules somatiques du lait) avec des variables potentiellement explicatives (les facteurs de variation). Ces facteurs de variation peuvent être de nature qualitative (année, saison de vêlage, statut vis à vis de l'infection.) ou quantitative (numéro de lactation, stade de lactation, production laitière.).

Quelques études à objectif descriptif permettent d'identifier des facteurs de variations de la concentration en cellules somatiques du lait (Dohoo et al.,1984; Wilson et al.,1997). Ainsi, Wilson et al. (1997) ont rapporté la relation qui existe entre les valeurs de la concentration en cellules somatiques et de l'agent pathogène impliqué.

Dans de nombreux travaux, l'étude des facteurs de variation est de type analytique. Elle est réalisée à l'aide de modèles linéaires généralisés (par analyse de variance et/ou de co-variance) (Bodoh et al., 1975; Kennedy et al., 1982; Jaartsveld et al., 1983; Sheldrake et al., 1983; Emanuelson et Persson, 1984; Serieys, 1985a; Slettback et al., 1990; Deluyker et al., 1993; Laevens et al., 1997; Schepers et al.,1997; Coulon et al., 1998). L'intérêt d'une telle approche est qu'elle permet d'évaluer l'effet d'un facteur de variation en tenant compte de l'effet des autres facteurs inclus dans l'analyse. Dans le cas de l'étude des facteurs de variation de la concentration en cellules somatiques du lait, ce type d'approche permet de tenir compte du fait que de nombreux facteurs liés entre eux influencent de façon concomitantes les valeurs de concentration. C'est le cas de facteurs liés à l'animal d'une part et de facteurs liés à l'infection d'autre part : par exemple, le risque d'infection intra-mammaire est plus élevé en début de lactation (Barkema et al., 1998b). A l'aide de telles méthodes statistiques, l'effet propre de chaque facteur est distingué. Les résultats peuvent alors être exprimés en terme de moyenne par niveau de facteur, ajustée des autres facteurs.

Dans la plupart des travaux, la concentration en cellules somatiques du lait à chaque contrôle laitier est l'unité statistique. Mensuellement, cette dernière est supposée être influencée par les facteurs de

variation inclus dans le modèle d'analyse. L'emploi de modèles linéaires généralisés nécessite une distribution de la variable normale. Or l'unité statistique est très asymétrique (Beaudeau et al., 1997).

Selon Ali et Shook (1980), la concentration en cellules somatiques présente une distribution normale après transformation logarithmique. Serieys (1985a) ; Slettback et al (1990) ; Deluyker et al (1993) ; Laevens et al.(1997) ; Schepers et al.(1997) et Coulon et al (1998) ont montré qu'après transformation logarithmique la distribution est le plus souvent népérienne ou comme le rapporte Jaartsveld et al. (1983), elle est de type logarithmique à base 10.

Afin de rendre les résultats plus facilement interprétables et comparables entre études, les moyennes de concentrations en cellules somatiques par facteur sont exprimées en valeurs brutes (milliers de cellules/ml), après transformation inverse comme rapporté par DJABRI (1999).

III. FACTEURS DE VARIATION DE LA CONCENTRATION EN CELLULES SOMATIQUES :

III.1.Facteurs liés au prélèvement et aux techniques de mesure :

III.1.1. Effet de la fraction du lait prélevée:

La concentration en cellules somatiques varie en fonction de la fraction du lait prélevé. La concentration en cellules somatiques est plus élevée dans le lait d'une traite entière que dans le lait des premiers jets. La concentration en cellules somatiques augmente dans le lait d'égouttage (Djabri,1999). Elle est la plus élevée dans le lait résiduel prélevé une heure après la traite après injection de l'ocytocine (Smith et Schultze, 1966;Schalm et Lasmanis,1968; Berning et al., 1987; Ôstensson et al., 1988) (cf. tableau X).

Tableau X: Variation de la concentration en cellules somatiques ($\times 10^3$ cell/ml) en fonction de la fraction de lait de quartier prélevée.

Auteurs	Statut vis à vis de l'infection	Fraction de lait prélevée				
		Lait des 1 ^{ers} jets	Lait d'une traite complète	Mélange de tout le lait du quartier	Lait d'égouttage	Lait résiduel ^a
Berning et al. (1987)	Non infecté (bactériologiquement négatif)	12	ND	18	74	95
Ostensson et al.(1988)	CCS ^b <100	89	64	ND	117	152
	760>CCS>1000	197	235	ND	450	824
Smith et Shultz (1966)	Non infecté ^c	540	ND	ND	1 600	ND
	Infecté par <i>S. aureus</i>	3 300	ND	ND	6 500	ND
	Infecté par <i>Micrococcus</i>	670	ND	ND	2 100	ND

a : obtenu par l'injection d'une dose d'ocytocine 1heure après la traite, b : concentration en cellules somatiques, c : défini par cultures négatives 16 fois successives, ND : non déterminé.

Pour une fraction de lait donnée, il existe une variation importante entre les valeurs rapportées par les auteurs. Par exemple, le lait d'égouttage de quartier non infecté contient 73 700 cell/ml pour Berning et al. (1987) et 1 600 000 cell/ml pour Smith et Schultze (1966).

Le fait que les 1^{ers} jets contiennent la plus faible concentration en cellules somatiques est dû à la conservation des cellules somatiques dans la lumière des alvéoles suite à l'augmentation de la pression intra-mammaire (Djabri, 1999). A l'occasion de la traite, il y a une diminution de la pression intramammaire, et les cellules sont libérées en dernier lieu dans le lait d'égouttage (Schalm et Lasmanis, 1968).

III.1.2. Variation diurnale (variation entre deux traites) :

Une fluctuation cyclique de la concentration en cellules somatiques entre deux traites est rapportée par plusieurs auteurs. La concentration en cellules somatiques est la plus élevée dans le lait d'égouttage. Ce niveau persiste jusqu'à 4 heures après la traite, puis il diminue graduellement pour atteindre les valeurs minimales juste avant la traite suivante (Smith et Schultze, 1966; Schalm et Lasmanis, 1968; Dohoo et Meek.,1982 ; Leslie et al.,1983). (cf. figure 16).

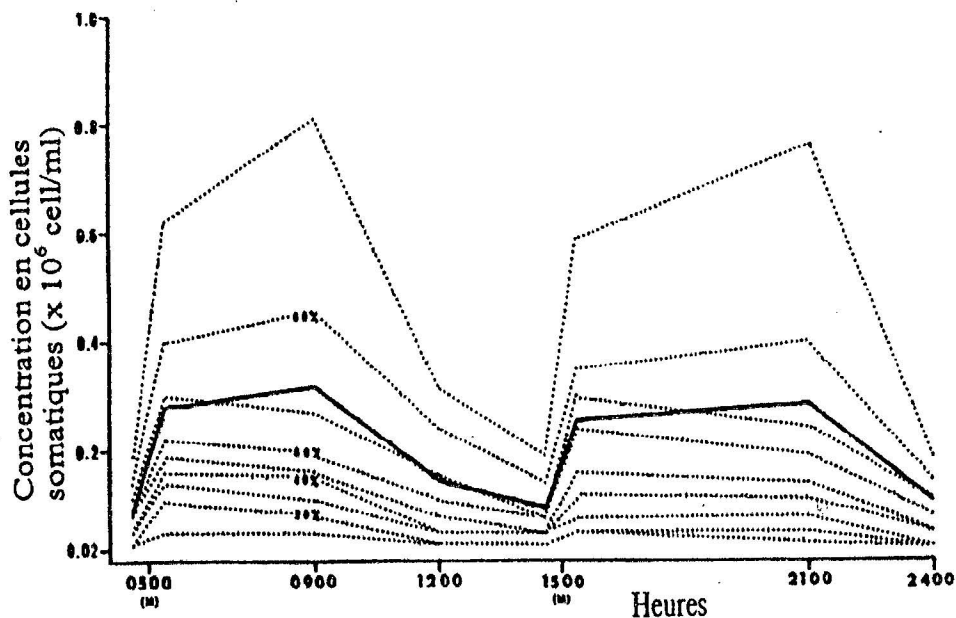


Figure 16 : Variation de la concentration en cellules somatiques ($\times 1000.000$) en fonction du moment d'échantillonnage d'après Smith et Shultze (1966)

Entre la fin de la première traite et le début de la traite suivante, les valeurs de la concentration en cellules somatiques peuvent être divisées par 4 (Smith et Schultze, 1966), voire 70 (Dohoo et Meek, 1982).

L'augmentation de la pression intra-mammaire dans les 4 heures après la 1^{ère} traite provoque une rétention des cellules somatiques dans la lumière alvéolaire (Djabri, 1999). Les quelques cellules qui restent libres sont diluées dans le lait de la citerne. Ceci est à l'origine de la diminution de la concentration en cellules somatiques observée dans le lait des 1^{ers} jets de la traite suivante (Schalm et Lasmanis, 1968).

Dans une fraction de lait donnée la concentration en cellules somatiques est plus élevée dans la traite du soir que dans la traite du matin (Leslie et al., 1983). La différence entre les deux peut atteindre 20% (Dohoo et Meek, 1982).

III.1.3. Effet de l'âge de l'échantillon :

La concentration en cellules somatiques varie en fonction de l'âge de l'échantillon. Les résultats sont contradictoires quant à l'évolution de la concentration en cellules somatiques dans les trois premiers jours après prélèvement. Madsen (1979) rapporte que, quel que soit le type d'appareil utilisé, il y a une augmentation de 44 % de la concentration en cellules somatiques durant les premières 24 heures. Celle-ci augmente de 5 % durant les 24 heures qui suivent. Enfin, elle reste stable jusqu'au 3^{ème} jour (cf. tableau XI). En revanche, Kennedy et al. (1982) rapportent que la concentration en cellules somatiques ne change pas durant les 3 premiers jours (cf. figure 17). A partir du 3^{ème} jour, la concentration en cellules somatiques diminue graduellement jusqu'au 8^{ème} jour à partir duquel, elle est plus accentuée (Djabri, 1999).

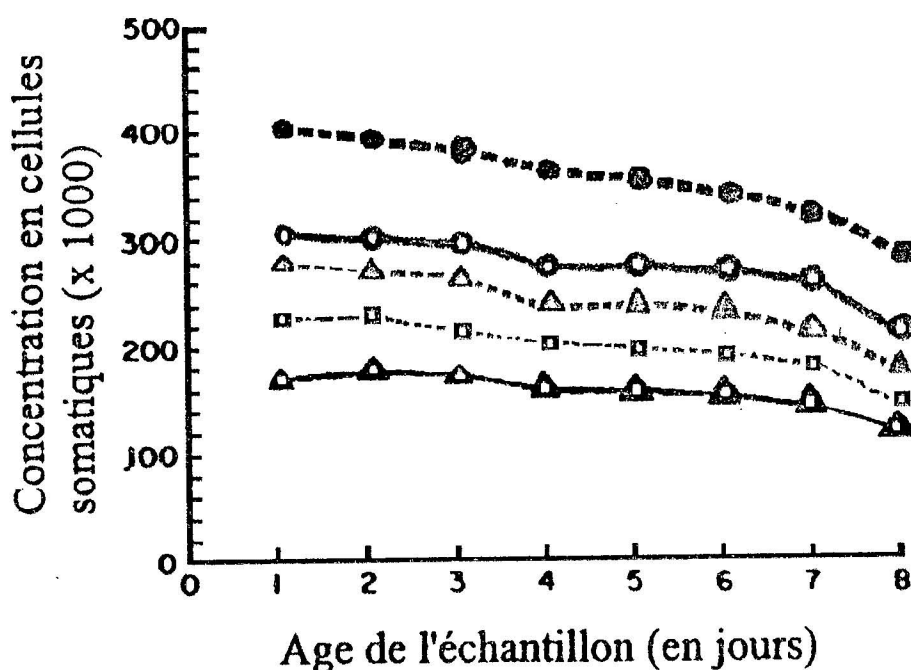


Figure 17 : Effet de l'âge de l'échantillon du lait sur la concentration en cellules somatiques (x 1000 cell/ml), en fonction de l'âge de l'animal (triangle vert: 2 an, carré marron :de 2 à 3 an, triangle gris :de 3 à 4 an, cercle bleu :de 4 à 5 an, cercle rouge >ou= 6 an)- d'après Kennedy et al . (1982).

Tableau XI : Effet de l'âge de l'échantillon sur la concentration moyenne en cellules somatiques (x 10³ celle/ml) obtenue avec le fossomatic et avec le microscope (25 échantillons de lait) d'après Madsen (1979).

Numération par	Age de l'échantillon en heures								
	3	5	8	24	30	48	54 -	72	80
Fossomatic	250	283	300	360	370	380	380	380	380
Microscope	64	72	80	92	96	98	98	98	98

III.1.4. Conditions de température et de préservation de l'échantillon:

III.1.4.1. Effet de la température sur l'échantillon:

Le traitement ou le stockage des échantillons à température ambiante, fortes ou à température de réfrigération influent sur la concentration en cellules somatiques de ces échantillons. Pour un échantillon donné et avec une méthode de mesure donnée, la concentration en cellules somatiques augmente quand la température de stockage augmente.

Les observations diffèrent selon les auteurs :

- Les travaux de Greer et Pearson (1976) montrent que les échantillons stockés pendant 10 jours à 4°C ont une concentration en cellules somatiques inférieure à celle des échantillons stockés pendant la même durée à température ambiante (625 000 cell/ml vs 650 000 cell/ml) (cf .figure 18).
- Hanzen (2000) rapporte qu'en cas de conservation à température ordinaire (21°C), l'échantillon est inutilisable au-delà de 16 heures. Conservés entre 3 et 5°C, les échantillons sont utilisables pendant 3 jours.
- Les résultats de Madsen (1979) montre que les échantillons non préservés et chauffés à 90° C pendant 5 min et dénombrés par le Fossomatic présentent des concentrations en cellules somatiques supérieures à celles des échantillons non chauffés (600 000 cell/ml vs 350 000 cell/ml).
- Miller et al. (1986) observent que la concentration cellulaire des échantillons frais de lait d'égouttage chauffés à 60°C est supérieure à celles des échantillons chauffés à 40°C (550 000 cell/ml vs 450 000 cell/ml).

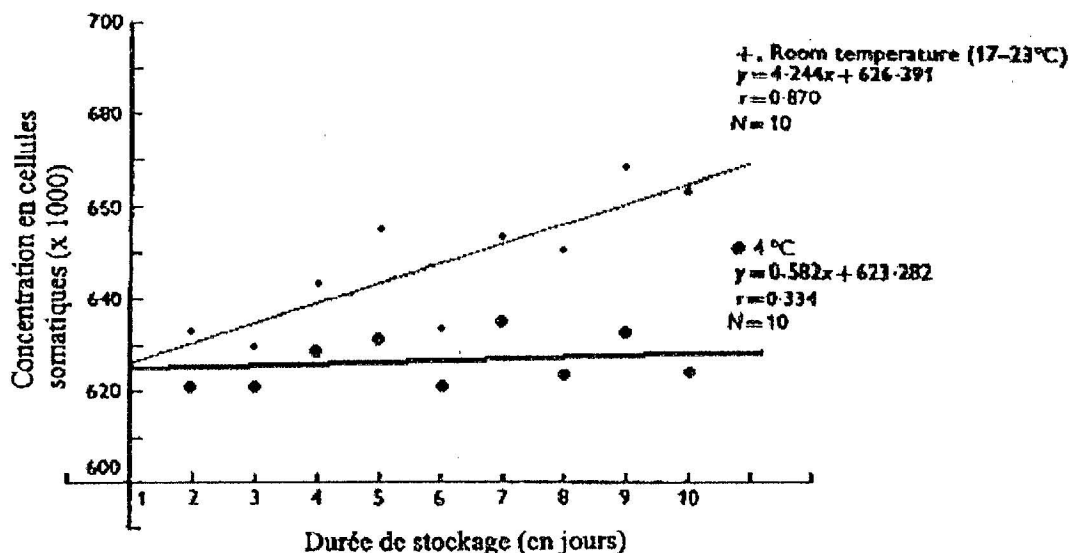


Figure 18 : Concentration moyenne en cellules somatiques de 10 échantillons stockés pendant 10 jours à température ambiante ou à 4° C - d'après Greer et Pearson (1976).

III.1.4.2. Effets des produits de conservation :

L'adjonction de produits de conservation aux différents types de lait donne des résultats contradictoires selon les auteurs.

- Selon Madsen (1979), les échantillons additionnés de bichromate de potassium présentent une concentration en cellules somatiques plus élevée que celle des échantillons non préservés (450 000 cell/ml vs 400 000 cell/ml).
- En revanche, Hanzen (2000), rapporte que :
 - l'addition de bichromate de potassium à l'échantillon permet de le conserver à température ambiante pendant 14 jours pour une analyse par un Coulter Counter.

Ce même additif ne modifie pas au cours de la semaine suivant le prélèvement le taux cellulaire déterminé par le Fossomatic que l'échantillon soit conservé à 5 ou 22°C.

- l'addition de formaldéhyde aux prélèvements permet leurs dénombrements par le Coulter Counter pendant 24 heures s'il sont conservés à 21°C et pendant 3 jours s'ils sont conservés à 4°C.

III.1.4.3. Effet de la congélation :

En général, la concentration en cellules somatiques déterminée par le Fossomatic est plus faible après la période de congélation, qu'avant celle-ci. La différence entre les deux valeurs est cependant faible..

Selon Barkema et al. (1997), cette différence s'accroît quand la période de congélation augmente. La diminution de la concentration en cellules somatiques déterminée par le Fossomatic est due à la dégranulation nucléaire causée par la congélation. Cette dégranulation nucléaire provoque une perte d'absorption du colorant spécifique de l'ADN qui est nécessaire pour le comptage par le Fossomatic (cf. tableau XII).

Tableau XII : Concentrations en cellules somatiques avant et après congélation ($\times 10^3$ cell/ml) - d'après Barkema et al. (1997),

Durée de la Congélation (en jour)	Nombre d'échantillons	Avant congélation	Après congélation	Différence (%)
1	1141	68	65	4,4*
2	582	109	104	4,6*
3	536	132	124	6,1*
4	643	55	51	7,3*
7	671	75	69	8,0*
14	540	106	95	10,4*
28	650	72	63	12,5*
Moyenne		81	75	7,4*

*: différence significative ($p < 0,05$)

Hanzen (2000) rapporte que, la congélation à -20°C pendant 3 jours réduit le taux cellulaire de 30 à 57 %.

III.1.5. Techniques de mesure :

Le choix de l'appareil de mesure (Fossomatic, compteur-coulter, ou microscope) est très important, car il peut exister des variations de la concentration en cellules somatiques obtenue par les différents appareils pour un échantillon donné.

Miller et al (1986) rapportent que la moyenne géométrique du taux cellulaire des échantillons de lait de quartier obtenue par microscopie, fossomatic, et coulter n'est pas assez différente entre ces type d'appareils.

Néanmoins, pour un échantillon donné, les valeurs de la concentration en cellules somatiques obtenues à l'aide du compteur-coulter sont élevées que celles obtenues à l'aide du Fossomatic, elles est respectivement pour le fossomatic et le coulter :

- 311.000 et 399.300 cell/ml quant elles est évaluer au niveau du lait de quartier (Miller et al, 1986).
- 172 000 et 179.000 cell /ml quant elles est évaluer au niveau du lait de tank (Alan. W ; Hill et al, 1982).

En effet, l'élévation de la concentration en cellules somatiques observée avec le coulter est probablement due au comptage des fragments cellulaires, des protéines agrégées et des différents artefacts. (Miller et al., 1986).

Il semble bien que pour des numérations supérieures au million de cellules, le coulter counter donne des résultats plus faibles que le fossomatic ; l'inverse est vrai pour des concentrations inférieures à 500 000 cellules (Hanzen,2000).

De plus, pour un échantillon donné, les valeurs de concentration en cellules somatiques obtenues par le Fossomatic sont supérieures à celles obtenues par microscope (Madsen, 1979). Par exemple, le comptage de la concentration en cellules somatiques par le Fossomatic dans des échantillons de lait non préservés et âgés de 24 h est plus élevé (380 000 cell/ml) par rapport à celle comptée par le microscope (100 000 cell/ml).

Ces différences apparaissent très importantes. Au vu des procédures d'étalonnage des appareils prévues dans la norme 148a:1995 (IDF,1995), il est très probable que les différences entre méthodes de mesure sont actuellement très faibles (Djabri,1999).

III.2. Facteurs d'ordre physiologique (en l'absence d'infection) :

L'étude des facteurs de variation d'ordre physiologique s'appuiera avant tout sur des résultats obtenus chez des génisses et des vaches dont le lait est bactériologiquement négatif. Ceci permet de s'affranchir de l'interaction éventuelle entre les variations liées à ces facteurs et celles liées aux infections intra-mammaires sur la concentration en cellules somatiques.

III. 2.1. CCS du lait de « génisses bactériologiquement négatives » :

Chez les génisses, peu de résultats se rapportent aux CCS sans toutefois préciser leur variabilité. Néanmoins, Toe (1999) fait état de concentrations élevées aussi bien chez des génisses nullipares que chez des primipares.

Les concentrations augmentent tout au long de la gestation. Trinidad et al. (1990) ont rapporté des CCS évoluant de 10 546 000 cell/ml à 12 887 000 cell/ml du premier au dernier trimestre de la gestation. Selon Toe (1999), Serieys (1985b) et Coulon et al (1996), ce niveau élevé de CCS avant mise bas serait plus d'origine physiologique ou lié à des œdèmes qu'infectieux, du fait de la mise en place de la lactation, de la faible production laitière (effet de concentration).

Ces CCS élevées persistent durant les 2 premières semaines de la lactation, puis diminuent fortement après, dès que la lactation s'établit.

Selon Miller et al. (1991) et Nickerson et al . (1995), les CCS varient de :

- 8 500 000 cell/ml à 310 000 cell/ml avant et après la mise bas respectivement,
- 290 000 cell/ml à 110 000 cell/ml de la semaine suivant la mise bas à la 3^{ème} semaine de lactation.

III.2.2. CCS du lait de vaches bactériologiquement négatives :

Chez les vaches bactériologiquement négatives, il existe une grande variabilité de valeurs de CCS :

- Selon Schepers et al. (1997) et (Jaartsveld et al., 1983), elle est de 14 000 cell/ml et 280 000 cell/ml, respectivement ; quand elle est évaluée au niveau du quartier ;

- Selon Wilson et al. (1997) et Natzke et al.(1972), de 20 000 cell/ml à 214 000 cell/ml, respectivement ; quand elle est évaluée sur le lait de la mamelle.

Récemment, sur des vaches bactériologiquement négatives, Laevens et al. (1997) ; Schepers et al (1997) et Wilson et al (1997), ont rapportés des valeurs de CCS inférieures à 50 000 cell/ml et cette valeur pourrait être retenue comme seuil maximal pour les définir.

III.2.3. Stade de lactation :

L'effet du stade de lactation a été étudié par de nombreux auteurs (Natzke et al.,1972; Bodoh et al.,1975; Brooks et al.,1982; Kennedy et al., 1982;;Jaartsveld et al., 1983; Sheldrake et al.,1983; Dohoo et al., 1984;; Emanuelson et Persson.,1984;Serieys,1985; Wiggans et Shook,1987; Miller et al., 1991; Coulon et al., 1996; Laevens et al.,1997 ; Schepers et al.,1997). Parmi ceux ci, sept seulement ont considéré comme matériel d'étude des vaches bactériologiquement négatives.

Chez ces dernières et selon les auteurs cités ci dessous, l'effet du stade de lactation apparaît différent. Les résultats montrent que les concentrations en cellules somatiques, (cf. tableau XIII), :

- ne diffèrent pas en fonction du stade de lactation (.Natzke et al., 1972; Brooks et al., 1982; Laevens et al., 1997,)
- varient significativement en fonction du stade de lactation.(Jaartsveld et al., 1983 ; Serieys 1985 et Schepers et al. 1997)
- sont plus élevées dans le 1^{er} mois de lactation que plus tardivement Jaartsveld et al.,1983 et Sheldrake et al.,1983).
- sont élevées en début de lactation, passent par un minimum entre 40 et 80 jours après vêlage, puis augmentent jusqu'à la fin de la lactation (Schepers et al., 1997 ; Rupp,2000) (cf. figure 19).
- Augmentent à partir du 15^{ème} jour post-partum jusqu'à la fin de la lactation. (Serieys 1985b).

Au total, en dépit des différences de valeurs de concentrations en cellules somatiques constatées entre les 7 études précitées, il est possible de noter une tendance à l'élévation en début de lactation suivie d'une diminution au 2^{ème} mois, puis légère augmentation jusqu'à la fin de la lactation.

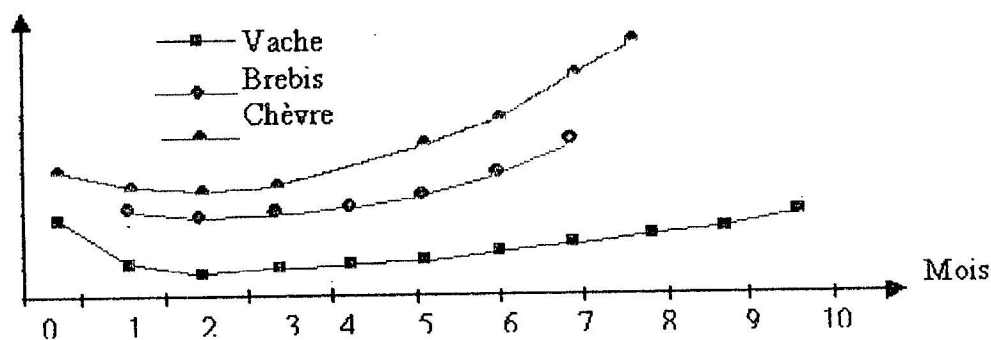


Figure 19: évolution des concentrations en cellules somatiques en fonction du stade de lactation chez des animaux domestiques sains (Rupp,2000).

Selon plusieurs auteurs, pour un stade de lactation donné, on observe :

- Une faible variabilité des valeurs de la concentration en cellules somatiques, quand celle ci est évaluée au niveau de la mamelle. A titre d'exemple, Brooks et al. (1982) ainsi que Laevens et al (1997) et Serieys, 1985a rapportent des valeurs de 12 030 cell/ml et 45 000 cell/ml, respectivement au cours du 1^{er} mois de lactation.
- Une moindre variabilité, quand elle est mesurée au niveau du quartier même si les valeurs brutes constatées sont plus élevées. A titre d'exemple, Sheldrake et al.,1983 ainsi que

Jaartsveld et al., 1983 rapportent des valeurs de 120 000 cell/ml et 280 000 cell/ml, respectivement en milieu de lactation.

L'évolution de la concentration en cellules somatiques dessine une courbe inversée par rapport à la courbe de la production laitière aussi bien chez les vaches bactériologiquement négatives que celles infectées, (Coulon, 1996) . Un effet de dilution / concentration en cellules somatiques du lait serait à l'origine de cette évolution (Kennedy et al., 1982 ; Serieys, 1985a).

Selon Emanuelson et Persson (1984), l'évolution de la concentration en cellules somatiques du lait en fonction du stade de lactation semble être la conséquence de ce phénomène de dilution / concentration, notamment par son augmentation après le pic de lactation. En effet, ces auteurs rapportent un effet mineur du stade de lactation ajusté de celui de la production laitière journalière. Le facteur « stade de lactation » n'explique alors que 1 à 2 % des variations de concentration en cellules somatiques du lait (Emanuelson et Persson, 1984). En revanche, Schepers et al (1997) observent que l'augmentation de la concentration en cellules somatiques du lait des vaches bactériologiquement négatives correspond à une augmentation de la proportion des cellules épithéliales dans la numération cellulaire, en particulier en fin de lactation chez les vaches multipares.

Selon Rupp et al (2000), la proportion de CCS présentent des valeurs particulièrement élevées (supérieure à 800.000 cell/ml) et évolue parallèlement à la quantité de cellules excrétées. Néanmoins, dans les dix premiers jours de la lactation et particulièrement chez les primipares, ces valeurs restent particulièrement élevées et reflètent non seulement le phénomène de concentration mais aussi une plus forte fréquence d'inflammation après le vêlage.

Tableau XIII : Evolution de la concentration en cellules somatiques dans le lait ($\times 1000$ cellule /ml) en fonction du stade de lactation chez la vache bactériologiquement négatives.

Auteurs	Stade de lactation									
	Semaine I et 2		1 ^{er} mois	2 ^{ème} mois	3 ^{ème} mois	4 ^{ème} mois	7 ^{ème} mois	10 ^{ème} mois	Fin de lactation	
	Mamelle									
Brooks et al. (1982)	Niveau d'analyse									
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	12	11		14					
Jaartsveld et al. (1983)	Niveau d'analyse	Quartier (n=330)	Quartier (n=330)	Quartier (n=330)	Quartier (n=330)	Quartier (n=330)	Quartier (n=330)	Quartier (n=330)	Quartier (n=330)	Quartier (n=330)
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	330	280		280		280			
Laevens et al. (1997)	Niveau d'analyse	ND	mamelle (n=16)	mamelle (n=26)	mamelle (n=23)	mamelle (n=24)	mamelle (n=23)	mamelle (n=14)	ND	
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	ND	49	42	43	45	46	46	ND	
Natzke et al. (1972)	Niveau d'analyse	mamelle (n=70)	mamelle	ND	ND	ND	mamelle (n=1)	ND	mamelle (n=8)	ND
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	196	129	ND	ND	ND	361	118	ND	
Sheldrake et al. (1983)	Niveau d'analyse	quartier	quartier	quartier	quartier	quartier	quartier	quartier	quartier	quartier
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	250	80	100	120	120	160	160	ND	
Serieys, (1985) ^a	Niveau d'analyse	ND	mamelle (n=54)	mamelle (n=47)	mamelle (n=47)	mamelle (n=39)	mamelle (n=201)	ND	mamelle (n=38)	
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	31	31	35	52	54	61	ND	78	

^a Les vaches non infectées sont définies par 2 prélèvements bactériologiquement négatifs encadrant la mesure mensuelle de la concentration en cellules somatiques. Pour les autres auteurs, les vaches non infectées sont définies par un diagnostic bactériologique négatif pour le même échantillon utilisé pour la mesure de la concentration en cellules somatiques. ND : non déterminé.

III.2.4. Numéro de lactation (âge) :

Une augmentation des CCS en relation avec l'âge a également été rapportée chez la vache. Selon ces auteurs, l'effet du numéro de lactation sur l'augmentation des CCS serait dû indirectement à l'augmentation de la prévalence d'infection (Sheldracker et al., 1983 ; Serieys, 1985a ; Harmoun, 1994 ; Laevens et al., 1997 ; RUPP, 2000) (cf. tableau XIV).

Selon Serieys, (1985), le numéro de lactation n'a qu'une influence marginale par rapport à l'infection. En effet, quel que soit le numéro de lactation, il observe des taux cellulaires se situant autour de 50×10^3 cell/ml chez les vaches qui ne sont pas infectées et autour de 500×10^3 cell/ml, soit dix fois plus, chez celles qui sont infectées par un pathogène majeur.

Selon Rupp et al. (2000), l'augmentation des comptages moyens de lait de troupeau par lactation et de la proportion de vaches classées « infectées » est plutôt de type exponentiel avec des valeurs en moyenne triplées entre la première et la sixième lactation et de la même façon exponentielle avec le rang de lactation. En effet, il note qu'en sixième lactation, 9 à 18,5 % des CCS mensuels sont supérieurs à 800×10^3 cell/ml selon les races et que 28 à 48 % des vaches sont considérées comme durablement infectées contre 6 à 15 % en première lactation. Aussi, plus le comptage moyen est élevé en première lactation et plus son augmentation avec le rang de lactation est importante.

L'effet du numéro de lactation varie de plus avec le stade de lactation (Deluyker et al., 1993 ; Coulon et al., 1996 ; Schepers et al., 1997) :

- En début de lactation, chez les vaches indemnes de mammites cliniques, la concentration en cellules somatiques est supérieure chez les primipares par rapport aux multipares ($138\ 000$ cell/ml vs $56\ 000$ cell/ml).
- En fin de lactation, la concentration cellulaire chez les multipares est nettement supérieure ($210\ 000$ cell/ml vs $118\ 000$ cell/ml) (Coulon et al., 1996) (cf. figure 20).

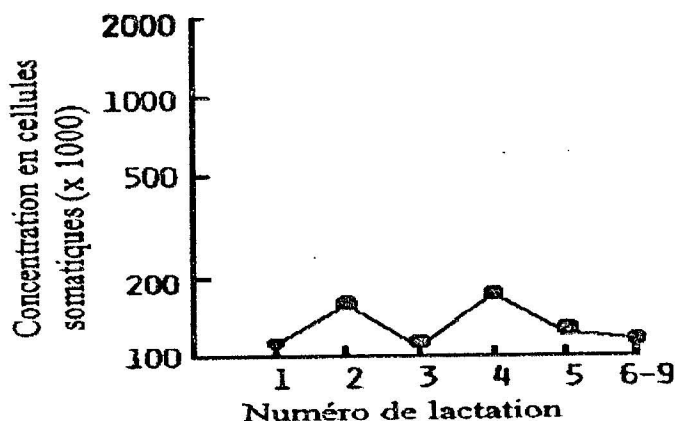


Figure 20 : Evolution de la concentration moyenne en cellules somatiques du lait de quartiers non infectés en fonction du numéro de lactation - d'après Sheldrake et al. (1983).

L'origine du niveau élevé de la concentration en cellules somatiques observé en début de lactation chez les primipares serait liée à la mise en place de la lactation. En effet, chez ces dernières, les cellules sont en suspension dans un faible volume de lait à cause de la faible production laitière (Schultz et al., 1994 ; Coulon et al., 1996 ; Rupp, 2000).

Tableau XIV: Variation de la concentration en cellules somatiques ($\times 10^3$ cell/ml) en fonction du numéro de lactation chez les vaches bactériologiquement négatives

Auteurs		Numéro de lactation					
		1	2	3	4 et 5	4 et +	6 et +
Brooks et al.(1982)	Niveau d'analyse	Mamelle	Mamelle	Mamelle	Mamelle	Mamelle	Mamelle
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	9,4	12,3		14,8	20,2	
Laevens et al. (1997)	Niveau d'analyse	Mamelle	Mamelle	Mamelle	Mamelle	Mamelle	Mamelle
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	45	51	53	ND	ND	ND
Natzke et al. (1972)	Niveau d'analyse	Mamelle	Mamelle	Mamelle	Mamelle	Mamelle	Mamelle
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	148	197	268	209	ND	480
Serieys (1985) ^a	Niveau d'analyse	Mamelle (n=164)	Mamelle (n=119)	Mamelle (n=89)	Mamelle	Mamelle (n=54)	Mamelle
	Moyenne ($\times 10^3$ cell/ml)	39	61	61	ND	66	ND
Moyenne calculée ($\times 10^3$ cell/ml)		60	80	100	110	43	254

^a les vaches non infectées sont définies par 2 prélèvements bactériologiquement négatifs encadrant la mesure mensuelle de la concentration en cellules somatiques. Pour les autres auteurs, les vaches non infectées sont définies par un diagnostic bactériologique négatif pour le même échantillon utilisé pour la mesure de la concentration en cellules somatiques. ND : non déterminé.

III.2.5. Effet de l'exercice physique :

L'effet de la marche a été étudié sur un effectif de 32 vaches dont 8 non infectées (bactériologiquement négatives) par Coulon et al. (1998). Chez les vaches non infectées, la concentration en cellules somatiques est plus élevée chez celles qui ont marché par rapport à celles qui sont restées dans l'étable (cf. figure 21). En moyenne, la différence entre les deux groupes est de + 47 000 cell/ml. Cet effet semble être strictement lié à la marche puisque la concentration en cellules somatiques chez les vaches qui ont marché redevient comparable à celles qui sont restées à l'étable (86 000 cell/ml vs 64 000 cell/ml) en fin d'expérience.

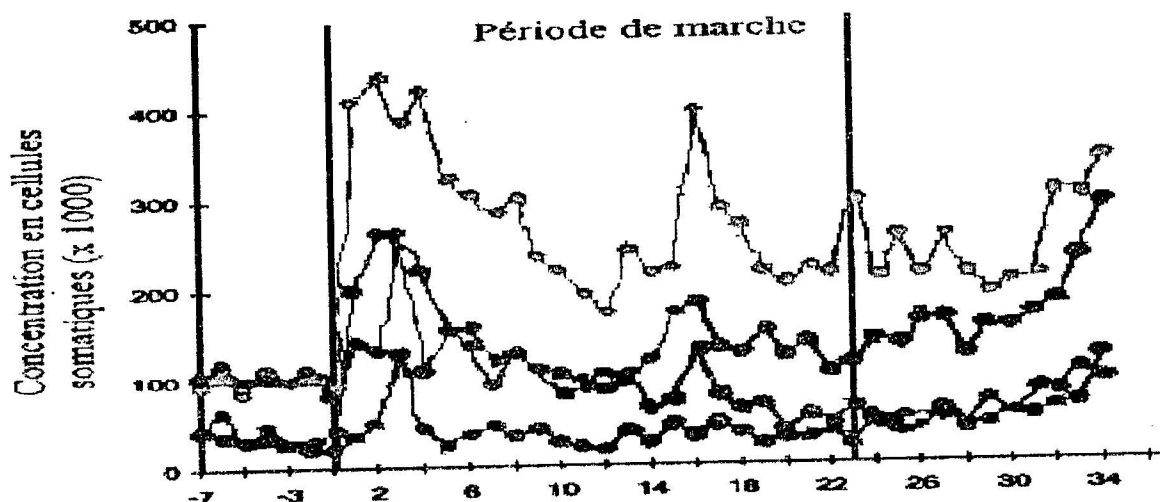


Figure 21 : Evolution de la concentration moyenne en cellules somatiques ($\times 1000$ cell/ml) du lait de vaches (1) non infectées qui marchent (rond bleu), (2) non infectées en stabulation (rond rouge), (3) infectées qui marchent (rond vert), (4) infectées en stabulation (rond gris) - d'après Coulon et al. (1998).

Selon Coulon et al. (1996), l'augmentation de la concentration en cellules somatiques du lait avec la marche trouve deux explications probables :

- Un effet de stress donc du cortisol est responsable d'une diminution de production induisant une concentration des cellules dans un petit volume de lait.
- Une origine traumatique responsable d'une inflammation non infectieuse induite par la marche.

III.2.6. Effets génétiques :

La concentration en cellules somatiques du lait présente des variations de type génétique au sein d'une race et entre races. Deux types d'effets génétiques peuvent être distingués :

III.2.6.1-Les variations génétiques au sein d'une race :

La variabilité génétique de la concentration en cellules somatiques du lait au sein d'une race est décrite à l'aide de deux paramètres génétiques : la variance génétique et le coefficient d'héritabilité.

- o La variance génétique mesure la variabilité du caractère attribuable aux différences génétiques entre individus.
- o Le coefficient d'héritabilité exprime la part des variations observées du caractère due aux différences génétiques entre individus. Il se calcule par le rapport entre la variance génétique et la variance phénotypique (observée) (Djabri , 1999).

L'estimation de ces paramètres génétiques pour la concentration en cellules somatiques du lait a fait l'objet de nombreux travaux (Monardes et al., 1983 ; Boettcher et al., 1992 ; Weller et al.,1992 ; Schutz et al., 1994 ; Reents et al, 1995 ; Rupp et Boichard, 1998).

Des différences génétiques entre individus existent mais elles sont faibles au regard des différences phénotypiques (observées) :

- L'écart-type de la concentration en cellules somatiques est estimé à 135 000 cell/ml par Reents et al. (1995) en cas de mesure au contrôle laitier (mensuellement) et à 140 000 cell/ml par (INRA/Institut de l'Elevage, 1997) en cas de mesure sur la lactation.
- Le coefficient d'héritabilité est assez faible (0,10 à 0,15 en moyenne), quel que soit le caractère considéré (concentration en cellules somatiques, score de cellules somatiques) pour la plupart des auteurs.

Sheldracker et al. (1983) ; Serieys (1985) ; Harmoun (1994) et Laevens et al (1997) rapportent, au sein d'une même race, une différence en scores des cellules somatiques qui augmentent avec le rang de lactation (0,2 à 0,25 unité par lactation).

Néanmoins, chez des animaux totalement indemnes de germes, cette évolution apparaît modérée, voir négligeable (Rupp et al, 2000). Selon Poutrel (1983, 1985) et Seegers et al (1997), l'élévation des numérations cellulaires reflète probablement l'augmentation de l'incidence et de la persistance des infections mammaires avec l'âge, mais aussi l'augmentation de l'intensité de la réaction inflammatoire des animaux.

III.2.6.2. variations entre races :

Emanuelson et Persson (1984) et Schutz et al. (1994) rapportent des valeurs de concentration moyenne en cellules somatiques différentes d'une race à l'autre. Toutefois, ces auteurs n'ont pas visé comme objectif l'évaluation des différences entre races.

Néanmoins, Coulon et al. (1996), à partir de données calculées sur la lactation d'un échantillon de 261 vaches multipares indemnes de mammites cliniques ont rapporté des valeurs moyennes en concentration de cellules somatiques de 116 000, 68 000 et 77 000 cell/ml dans les races Holstein, Montbéliarde et Tarentaise respectivement. Cet écart semble être attribué à la présence possible de vaches infectées sans signes cliniques dans la race Holstein, en relation avec les caractéristiques

physiques des trayons plus favorables à la survenue des infections intramammaires comme rapporté par Jorstad et al. (1989).

Les récents travaux de Rupp et al. (2000), sur les huit principales races françaises, montrent des variations importantes des numérations cellulaires par lactation :

- Les plus faibles, inférieures ou égales à 143 000 cell/ml, s'observent chez les races Simmental, suivies des races Brune, Montbéliarde et Tarentaise (180 000 à 195 000 cell/ml).
- Les plus élevées, 200 000 cell/ml et plus, sont celles des races Prim'Holstein, Normande et Pie Rouge des Plaines.

En effet, la différence en concentration de cellules somatiques observée est de moins de 70 000 cell/ml entre les races les moins productrices (Abondance et Simmental française) par rapport aux races plus productives (Prim'Holstein et Pie Rouge des Plaines) à un niveau de production équivalent. Cette différence entre races n'est donc pas attribuable au niveau de production.

III.2.7. Fréquence de traite :

Stelwagen et Lacy-Hulbert (1996), sur un effectif de huit vaches multipares dont la concentration en cellules somatiques est en moyenne inférieure à 50 000 cell/ml, rapportent qu'une seule traite par jour est responsable d'une augmentation de la concentration par rapport à celle des vaches traitées deux fois par jour. Après reprise de deux traites, la concentration cellulaire diminue jusqu'à atteindre ses valeurs initiales (cf. figure 22).

Cette élévation de la concentration, à l'occasion d'une seule traite, n'est pas clairement expliquée et son origine pourrait être une augmentation du risque d'infections intra-mammaires.

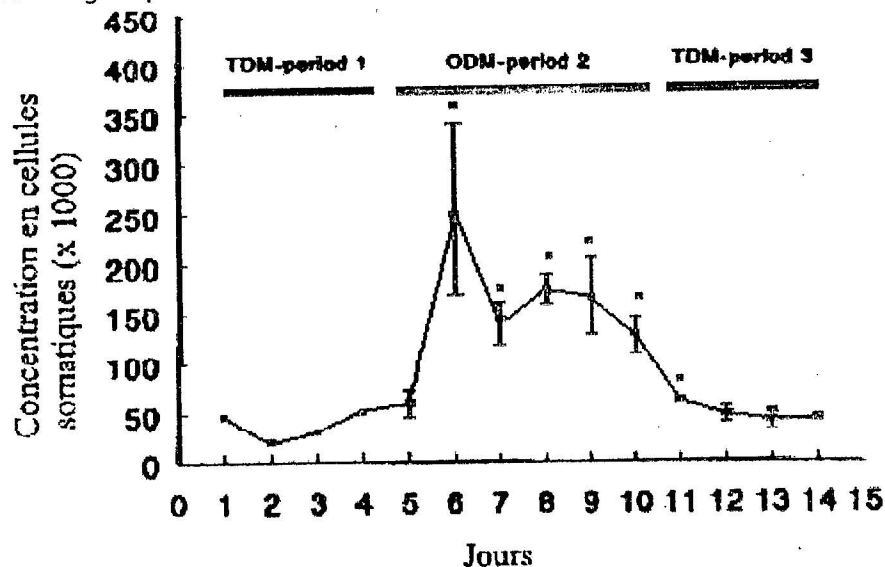


Figure 22: Evolution de la concentration en cellules somatiques (x 1000 cell/ml) du lait de vaches soumises à deux traites par jour (TDM-period 1 et 3) ou une seule traite par jour (ODM-period 2) - d'après Stelwagen et Lacy-Hulbert (1996).

III.2.8. Effet "vache" :

L'effet "vache" est très important, il exprime la variation propre aux caractéristiques des animaux. En effet, dans la plupart des études, inclure un effet "vache", dans le modèle d'analyse, permet de tenir compte des différences génétiques entre vaches, mais aussi des antécédents, notamment en terme de santé (infections intra-mammaires antérieures...) (Emanuelson et Persson, 1984; Coulon et al., 1996; Schepers et al., 1997).

Selon Kennedy et al. (1982) et Emanuelson et Pearson (1984), 23,8 à 46,4% des variations de la concentration en cellules somatiques sont dues à des différences entre vaches.

III.2.9. Effet des hormones

L'effet de l'ocytocine, de la vasopressine et de l'adrénaline s'exerce essentiellement au moment du let-down. Aucune donnée précise n'est disponible pour la thyroxine, l'hormone de croissance et l'insuline.

Sous l'effet oestrogénique, une augmentation significative de la concentration en cellules somatiques ($p < 0,05$) a été rapporté par Saumande et al. (1999). Cette influence marquée et prolongée se traduit par une réduction de la production laitière. L'augmentation du taux cellulaire résulte de la réponse à l'action des oestrogènes sur les capillaires qui se traduisant par une augmentation de leur perméabilité et de la diapédèse. De pareilles modifications, quoique non significatives, ont également été observées au cours de la phase œstrale (Anderson et al., 1983 ; Berning et al., 1987 ; Guidri et al., 1975)

En ce qui concerne l'ACTH et les corticoïdes qui peuvent déprimer l'action phagocytaire des polymorphonucléaires, les avis sont contradictoires quant à leurs effets sur les concentrations cellulaires (Hanezen, 2000).

III.3. Facteurs liés à l'infection :

III.3.1. Variations liées à l'infection bactérienne constatée :

De nombreux auteurs ont étudié l'effet de l'infection par un pathogène majeur ou mineur sur la concentration en cellules somatiques. L'augmentation de la concentration en cellules somatiques est en relation avec la survenue d'infection intra-mammaire.

Que ce soit par un agent pathogène majeur ou mineur, les infections intra-mammaires affectent, en l'augmentant, la concentration en cellules somatiques (Natzke et al., 1972 ; Andrews et al., 1983). De plus, en cas d'infection intra-mammaire et quel que soit l'agent pathogène impliqué, cette augmentation de la concentration apparaît plus importante avec signes cliniques qu'en cas d'absence de signes cliniques (Kirk, 1984) ; comme elle peut, dans certains cas, débuter au moins 10 jours avant l'apparition des signes cliniques (Dohoo et al., 1984 ; Deluyker et al., 1993).

Deluyker et al. (1999), rapportent que les infections intra-mammaires chroniques ou subcliniques s'installent plutôt avec une élévation de la concentration en cellules somatiques qui persistent aussi longtemps que l'infection.

En effet la réponse inflammatoire :

- Qui accompagne la mammite clinique à coliformes peut conduire à l'élimination réussie de l'organisme causal, c'est plus souvent, le cas avec *Escherichia coli* qu'avec *Klebsiella pneumoniae*.
- Associée aux infections intramammaires par les autres pathogènes majeurs n'entraînent pas souvent l'élimination de ces organismes plus invasifs.

III.3.1.1- CCS du lait de génisses lors d'infection :

Peu de résultats se rapportent aux CCS des génisses infectées sans toute fois préciser leur variabilité. Elles sont de :

- 8 130 000 et 8 500 000 cell/ml avant la mise bas selon Hallberg et al. (1995) et Nickerson et al (1995) respectivement.
- 8 830 000 cell/ml dans 86 % de quartiers infectés de génisses nullipares selon Trinidad et al. (1990) .

Cette concentration varie en fonction du germe en cause:

- *Staphylococcus aureus* et les *Streptocoques* entraînent des concentrations plus élevées que les *Staphylococcus coagulase négative (SCN)* (Oliver et al., 1997)

- lors d'infection par *Staphylococcus aureus* la valeur de CCS est de 17 300 000 cell/ml contre 12 800 000 cell/ml par *Staphylococcus chromogènes*, Trinidad et al.(1990).
- Les travaux de Hallberg et al.(1995) ne montrent pas de différence de CCS selon le germe pathogène responsable d'infection.

Les génisses ne présentant pas d'infection intra-mammaire et ayant le canal du trayon colonisé par les *SCV* ont des CCS plus élevées que celles n'ayant ni infection, ni trayon colonisé (9 300 000 vs 4 900 000 cell/ml). Selon Trinidad et al.(1990), la colonisation du canal seul peut être préjudiciable au développement des tissus sécrétoires de la mamelle.

Il semble que les SNC constituent la première cause d'infection intramammaire chez les génisses en première lactation (Oliver e al, 1997) et leur influence sur le CCS du lait de Tank ne peut plus être ignorée (Rainard et al, 1999)

a. CCS du lait de vaches infectées par un agent pathogène mineur :

Chez les vaches infectées par un agent pathogène mineur tel que *Staphylococcus coagulase négative* (SCN), *Corynebacterium bovis*, germes les plus fréquemment rencontrés ainsi que *micrococcus spp*, *Mycoplasma spp* et *Nocardia spp*. La concentration en cellules somatiques est plus élevée que chez celle négatives.

Selon Berning et al (1992) et Laevens et al (1997), les pathogènes mineurs tels que *Corynebactérium Bovis* et les *staphylocoques coagulase- négative* (SNC) provoquent généralement une augmentation plus modérée de CCS.

Par conséquent, l'infection par un agent pathogène mineur entraîne, en moyenne, une augmentation d'environ 50 000 cell/ml et est associée à la survenue d'infections le plus souvent bénignes.

b. CCS du lait de vaches infectées par un agent pathogène majeur :

Staphylococcus aureus, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, les *coliformes* sont les agents pathogènes majeurs les plus souvent isolés dans les cas d'infections intra-mammaires cliniques ou subcliniques, (Berning et al,1992 ;Schepers et al.,1997).

L'infection par un agent pathogène majeur est un facteur qui affecte fortement la concentration en cellules somatiques du lait, de l'ordre de 450 000 cell/ml par rapport à celle du lait de quartier des vaches bactériologiquement négatives.

Ceci est conforme au fait que les infections intra-mammaires avec signes cliniques (parfois généraux) sont souvent dues à des agents pathogènes majeurs. Selon Djabri (1999), cette augmentation apparaît en moyenne différente selon l'agent pathogène impliqué :

- + 541 000 cell/ml pour *Staphylococcus aureus*,
- + 170 000 cell/ml pour *Streptococcus agalactiae*,
- + 334 000 cell/ml pour *Streptococcus dysgalactiae*.

Lors d'infection et par rapport aux vaches bactériologiquement négatives, cette concentration du lait de quartier peut être multipliée par un facteur :

- ≥ 2 en cas d'agent pathogène mineur (Serieys, 1985 ; Schepers et al., 1997),
- ≥ 5 en cas d'agent pathogène majeur (Schukken et al., 1991; Schepers et al., 1997).

III.3.2. Variations liées aux facteurs de risque des infections :

Les facteurs de risque des infections intra-mammaires sont de 2 types :

- les facteurs de risque intrinsèques (liés aux animaux),

- les facteurs de risque extrinsèques (liés aux conditions et à la conduite d'élevage) qui constituent des facteurs de variation «indirects » de la concentration en cellules somatiques dans le lait.

III.3.2.1. Variations liées aux facteurs de risque intrinsèques :

Il est possible de distinguer cinq caractéristiques principales associées à un risque accru d'infections intra-mammaires :

- le numéro de lactation,
- le stade de lactation,
- le niveau de production,
- les caractéristiques de morphologie de la mamelle,
- l'état de santé des animaux.

L'incidence des infections intra-mammaires avec signes cliniques (Barkema et al., 1998b) et des élévations des concentrations en cellules somatiques (Bareille et al., 1998) augmentent quand le numéro de lactation des animaux augmente.

Le risque d'infection intra-mammaire est accru dans la période péripartum et au moment du tarissement (Barkema et al., 1998a) et plus de 30% des infections intra-mammaires sont observées dans le premier mois de lactation (Lescourret et al., 1995).

Il existe également, un effet propre du niveau de production, sur l'incidence des infections intra-mammaires (Lescourret et al., 1995) et sur la concentration en cellules somatiques du lait (Slettback et al., 1995 ; Coulon et al., 1996). Coulon et al. (1996) rapportent un effet significatif mais faible ; la concentration en cellules somatiques du lait diminue d'environ 10 000 cell/ml quand la production laitière initiale journalière augmente de 10 kg.

La principale caractéristique morphologique de la mamelle jouant un rôle dans les élévations de concentrations en cellules somatiques est la distance entre l'extrémité du trayon et le sol ; une faible distance est associée à une augmentation de la concentration en cellules somatiques (Slettback et al., 1995). De plus, la forme de l'orifice du trayon, la fermeté du sphincter (en relation avec la vitesse de traite), la forme et la longueur du trayon et le diamètre du canal du trayon influent sur la concentration en cellules somatiques (Jorstad et al., 1989; Slettback et al., 1990).

Selon Bareille et al., (1998), les vaches Holstein risquent d'avoir constamment des concentrations cellulaires supérieures à celles des autres races, ceci semble être en relation avec les caractéristiques physiques des trayons plus favorables à la pénétration des microbes.

Enfin, il existe des variations de concentration en cellules somatiques en fonction de la position des quartiers ; le lait des quartiers postérieurs a en moyenne une concentration en cellules somatiques plus élevée que celle des quartiers antérieurs, du fait qu'ils soient plus proches du sol et donc plus exposés aux traumatismes et aux infections (Jorstad et al., 1989 ; Miller et al., 1991).

Les affections et lésions de la mamelle augmentent donc le risque d'infections intra-mammaires (Bareille et al., 1998; Elbers et al., 1998).

D'autres troubles de la santé sont également associés à un risque accru ; le vêlage dystocique, la non délivrance, les boiteries (Gröhn et al., 1990 ; Oltenacu et al., 1990 ; Bareille et al., 1998).

III.3.2.2. Variations liées aux facteurs de risque extrinsèques :

Les facteurs extrinsèques ayant un rôle dans les variations de concentrations en cellules somatiques sont nombreux.

A partir des résultats de quelques récents travaux, les principaux facteurs liés aux conditions de logement, aux conditions de traite et aux variations saisonnières seront décrits.

Plusieurs facteurs liés aux conditions de logement sont associés à un risque accru de survenue des infections intra-mammaires et d'augmentation des concentrations en cellules somatiques (Bareille et al., 1998). La fréquence des élévations de la concentration en cellules somatiques >200 000 cell/ml est plus élevée dans les bâtiments à aire paillée que dans les bâtiments à logettes et lorsque la surface de couchage par animal est faible (Bareille et al., 1998). Ce risque accru est lié à une densité animale forte, pouvant induire une moindre propreté des vaches. Le niveau de contamination de la litière est un facteur de risque important de survenue d'infections par des germes d'environnement.

Toutefois, pour Bareille et al. (1998), le niveau de paillage observé n'est pas associé à une augmentation des concentrations en cellules somatiques.

Le stress provoqué par le mélange de vaches issues de bâtiments différents, l'isolement des vaches ou la présence d'un chien pour conduire le troupeau est associé à une augmentation de la concentration en cellules somatiques par effet de concentration (Dohoo et Meek, 1982) par baisse de la production de l'ordre de 10 à 20 % (Harmon, 1994). Selon Coulon et al. (1996), l'effet du stress sur la concentration en cellules somatiques semble indirect.

La technique de traite et la machine à traire, en l'occurrence, peuvent être associées à une augmentation de la survenue des infections intra-mammaires et de la concentration en cellules somatiques du lait (Billon et al., 1998). Ainsi, le non respect des mesures liées à l'hygiène de la mamelle (lavettes individuelles, mains du trayeur et faisceaux trayeurs propres...) accroît le risque d'infection par transmission des germes d'une vache à l'autre. Les défauts de réglage de la machine à traire peuvent entraîner un risque accru d'infections par diminution des moyens de défenses de la mamelle (éversion du sphincter du trayon, altération de la kératinisation...). Enfin, les glissements des manchons trayeurs et les chutes de faisceaux pendant la traite (induisant des entrées d'air) et la technique de traite (surtraite, dépose agressive des manchons trayeurs) sont associés à une augmentation du risque d'infections. La désinfection des trayons en fin de traite limite le risque d'élévation de la concentration en cellules somatiques (Bareille et al., 1998).

Il existe des variations saisonnières de la concentration en cellules somatiques ; cependant, les résultats sont contradictoires. En effet, Emanuelson et Persson (1984) ne rapportent aucune tendance saisonnière.

Par contre, après ajustement pour l'effet du stade de lactation, les valeurs de concentration sont plus élevées :

- en été selon Coulon et al (1996) et Dohoo et Meek(1982),
- en hiver selon Kennedy et al (1982),

L'effet de l'élévation de la température et/ou de la mise au pâturage sur l'augmentation de la concentration en cellules somatiques est controversé.

Les variations liées aux différences entre troupeaux ne sont pas détaillées mais tenu pour compte en incluant un effet troupeau estimé à environ 10 % (effet vaché) dans le modèle d'analyse (Emanuelson et Persson, 1984; Kennedy et al., 1982; Laevens et al., 1997; Schepers et al., 1997; Slettback et al., 1990).

IV. INTERPRETATION DU CCS ET UTILISATION PRATIQUE POUR LE DEPISTAGE DES INFECTIONS :

Dans une mamelle stérile, les CCS sont le plus souvent inférieur à 100 000 cell/ml et dépassent rarement 300 000 cell/ml (Serieys, 1985b ; Harmoun, 1994 ; Laevens et al., 1997).

Les variations physiologiques des CCS sont nombreuses et d'origine diverses. Dans la mesure, où la prise d'échantillon est standardisée, seul l'effet du stade de lactation reste problématique (Bergonier et al., 1994a). En fin de lactation, en raison de l'élévation physiologique de la concentration somatique, il faut souligner qu'il n'est pas aisé de distinguer les animaux sains de ceux modérément infectés. Néanmoins, le statut bactériologique reste prépondérant de la variation des CCS (Harmoun, 1994 ; Bergonier et al., 1997).

En cas d'infection, l'intensité de la réponse cellulaire est très variable selon le pathogène impliqué et les capacités de défense de l'animal (Rupp, 2000). En général, les infections par pathogènes majeurs s'accompagnent d'une élévation du CCS plus importante (Schepers et al., 1997) que les infections par pathogènes mineurs (Serieys, 1985a ; Schepers et al., 1997).

Dans les cas de mammites cliniques, les CCS peuvent atteindre plusieurs millions de cellules par ml (Pyorala et Pyorala, 1997). Ainsi, dans les premiers jours de l'infection, l'amplitude de la réaction cellulaire est maximale; son évolution et sa durée peuvent varier considérablement (Harmoun, 1994), en fonction du pathogène (Riollet et al., 1999) et de l'issue de l'infection (persistance, auto guérison, guérison après traitement).

En effet, en plus des variations d'origine non infectieuses, il existe une variabilité et une irrégularité de la concentration du lait en cellules somatiques durant la période l'infection. En conséquence, l'utilisation de valeurs ponctuelles de CCS pour distinguer de façon instantanée les individus sains des individus infectés apparaît peu adéquate. Il est donc pertinent d'observer les numérations cellulaires sur une période plus longue (Reneau, 1986 ; Bergonier et al., 1997).

Enfin, il faut noter que le plus souvent, l'échantillon analysé est un mélange de lait des quatre quartiers et que le CCS est une mesure de la concentration moyenne en cellules du lait de la mamelle, ce qui complique l'interprétation et diminue le pouvoir prédictif de la mesure (Rupp, 2000)

IV.1. Utilisation pratique des CCS :

En pratique, des règles de décision ont été proposées au vu de plusieurs CCS mesurés mensuellement sur l'ensemble de la lactation, les plus utilisées sont celles de Serieys (1985a). Elles constituent un bon outil de dépistage des infections chroniques et durables (Bergonier et al., 1997), mais ne permettent pas de :

- Discriminer les vaches non infectées des vaches infectées par les pathogènes mineurs (Serieys, 1985a).
- Distinguer les mammites cliniques avec ou sans signes cliniques. En particulier Les entérobactéries, , provoquent des mammites cliniques aiguës s'accompagnant d'une forte élévation de la concentration du lait en cellules, mais de courte durée, et il n'est donc pas rare qu'elles passent inaperçues sur la base de CCS disponibles une fois par mois (Rupp, 2000).

IV.2.1. Notion de seuil :

La notion de seuil est une notion relative quoique importante. Elle dépend de la sensibilité et de la spécificité du test, c'est-à-dire, sa capacité à détecter les animaux infectés de ceux non-infectés. Un test de dépistage des infections doté d'une grande sensibilité réduira le nombre de faux négatifs. A l'inverse, s'il est très spécifique, il permettra de diminuer le nombre de faux positifs. On privilégiera donc l'une ou l'autre propriété selon les conditions d'utilisation du test.

Si l'on doit sélectionner :

- des animaux en vue d'un traitement au tarissement, il conviendrait de réduire le nombre de faux négatifs et la sensibilité du test devra donc être élevée ; par conséquent, la valeur du seuil sera diminuée.

- A l'inverse, si l'on doit sélectionner les vaches à réformer, il conviendrait d'éliminer les faux positifs et le test devra être très spécifique ; par conséquent, la valeur du seuil sera augmentée.

Néanmoins, sur le plan pratique, il est plus important de connaître la valeur prédictive du test, c'est-à-dire la probabilité pour que l'animal déclaré infecté ou non infecté le soit réellement. Ces valeurs prédictives dépendent, bien entendu, de la spécificité et de la sensibilité du test, mais également de la prévalence de la pathologie dans le troupeau au moment de la réalisation du test. Ainsi, dans un troupeau, la probabilité pour qu'un animal présentant un taux cellulaire > à 250 000 cell/ml soit infecté est beaucoup plus grande s'il se trouve dans un troupeau où la prévalence des mammites est élevée que faible.

En se basant sur les tests bactériologiques si on tient compte d'un seuil de 200 000 cell/ml :

- la sensibilité du CCI est de 80 %, ce qui revient à dire que 20 % des vaches ont un taux cellulaire < à 200.000 cell/ml sont en fait infectées.
- la spécificité du test est de 75 à 80 %, ce qui revient à dire que 20 à 25 % des vaches considérées comme négatives avaient un taux cellulaire > 200 000 cell/ml.

Pour un seuil donné, quand la prévalence augmente, la valeur prédictive des animaux infectés augmente et celle des animaux non-infectés diminue, c'est-à-dire que la probabilité d'avoir des animaux non infectés dont le taux cellulaire est inférieur au seuil est diminuée. Il est cependant usuel de considérer que pour des prévalences d'infection comprises entre 5 et 50 %, les valeurs prédictives négatives et positives sont relativement constantes et comprises entre 75 et 78 %.

Dans la plupart des troupeaux, un seuil de CCI de 250 000 cell/ml, classe correctement, comme infectées et non infectées, 80 % des vaches (Hanzen , 2000).

IV.2.2. Détermination du CCS :

La détermination du CCS peut se faire :

- Sur le lait d'un quartier (**CCIQ** : Comptage Cellulaire Individuel par Quartier, **IQMCC** : Individual Quarters Milk Cell Count),
- Sur un lait de mélange des 4 quartiers (**CCI** : Comptage Cellulaire Individuel, **IMCC** : Individual Milk Cell Count) ou DCI : dénombrement cellulaire individuel.
- Sur un échantillon de lait prélevé du tank (**NCT** : Taux Cellulaire de Tank, **BMCC** : Bulk Milk Cell Count).ou DCM : dénombrement cellulaire massal.

L'analyse d'une série des moyennes de CCI, du troupeau et de leur évolution au cours du temps sera toujours plus profitable et plus riches de renseignements que des valeurs absolues ponctuellement relevées.

IV.2.2.1. Lait d'un quartier (CCIQ):

Un quartier est considéré comme infecté par un pathogène majeur quand le seuil de la CCIQ est > ou égal à 300 000 cellules par ml. Cependant, la probabilité d'isoler un germe pathogène majeur augmente très nettement au-delà de 200 000 cellules par ml.

Selon, la plupart des vaches présentant une mammite clinique ont des CCIQ supérieures à 3 000 000 cellules par ml mais les signes cliniques apparaissent dès que le lait renferme plus de 10^6 cellules /ml. Ces valeurs peuvent également dépendre du germe causal (Hanzen .,2000).

IV.2.2.2. Lait de mélange des quatre quartiers (CCI) :

L'atteinte d'un seul quartier n'entraîne pas forcément l'augmentation du taux cellulaire et peut laisser croire à la présence d'une mamelle saine. L'effet dilution doit être gardé en mémoire. Le CCI de 300 000 cellules/ml est considéré comme seuil pour déclarer infectée une vache dont provient le

lait examiné. Au-delà de 400 000 cellules/ml, il est fort probable que la vache soit atteinte par un pathogène majeur et à 2 000 000 cellules/ml, l'animal est ou a été vraisemblablement atteint d'une mammites clinique. (Hanzen, 2000).

L'analyse des CCS permet l'identification des vaches durablement infectées (mammites sub-cliniques de longue durée).

Selon les travaux de Serieys (1985) que cite Hanzen (2000) et sur la base de l'analyse d'un seul résultat, on estime que les vaches avec une valeur :

- $\geq 800\ 000$, une sur trois sont infecté par un pathogène majeur
- $> 300\ 000$ trois sur quatre sont infecté par un pathogène majeur,
- $\leq 300\ 000$ neuf sur dix ne sont pas infectées par un pathogène majeur

Cependant la fiabilité de ce diagnostic est faible puisque une vache sur trois infectée durablement à un taux cellulaire inférieur à 300 000.

Aussi est-il préférable d'analyser au moins 4 CCI et si possible 10 Comptages Cellulaires Individuels consécutifs (ou CMT) correspondant à un cycle complet de lactation et d'admettre qu'une vache est:

- non infectée durablement lorsque tous ses CCI sont inférieurs à 300 000 cellules/ml,
- suspecte ou douteuse lorsque plus d'une numération est supérieure à 300 000 cellules/ml,
- infectée durablement lorsqu'au moins deux de ses CCI ou plus (consécutifs ou non) sont supérieurs à 800 000 cellules/ml (ou CMT 2+ ou 3+).

A côté, de cette lecture individuelle dite « horizontale » des résultats mensuels de CCI, on peut également pratiquer une lecture dite « verticale » des données.

En effet, dans un troupeau, le pourcentage de CCI supérieur à 300 000 cellules/ml est un indicateur du pourcentage de vaches infectées et inversement (Hanzen, 2000).

Serieys (1985) et Faroult (1994) montrent que :

- la situation est satisfaisante et la prévalence des infections subcliniques est faible, si plus de 85% des vaches ont un comptage $< 300\ 000$ cellules/ml et moins de 5% ont un comptage $> 800\ 000$ cellules/ml de façon permanente
- la situation est mauvaise, si le pourcentage des CCI $< 300\ 000$ cellules/ml est $< 75\ %$ et 15 % des vaches ont un CCI $> 800\ 000$ cellules/ml. Un signal d'alarme devra être tiré et par conséquent un programme de lutte devra être mis en place.

Le CCI peut servir comme indicateur des pratiques de l'éleveur et moyen de contrôle de l'évolution des infections.

L'appréciation sur l'année du pourcentage de primipares ayant un CCS < 300.000 cellules/ml apporte un élément de jugement sur l'importance des infections nouvelles. Dans la mesure où l'effectif est suffisant pour que le pourcentage ait une signification et que le constat soit extrapolé à tout le troupeau :

- o plus de 95% des primipares ayant un CCS < 300.000 cellules/ml montre qu'il y a peu de nouvelles infections subcliniques pendant la lactation et par conséquent une prévention satisfaisante.
- o Par contre, un pourcentage inférieur à 85% de primipares ayant un CCS < 300.000 cellules/ml est révélateur de nombreuses nouvelles infections dues à une prévention insuffisante.

Le rapport **1**, est un indicateur de nouvelles infections au tarissement :

- o Inférieur à 10%, il est qualifié de satisfaisant.
- o Supérieur à 20 %, il est synonyme de nombreuses nouvelles infections.

$$\mathbf{1} = \frac{\text{nombre de vaches (CCS < } 300 \times 10^3 \text{ avant tarissement et CCS > } 300 \times 10^3 \text{ après vêlage)}}{\text{nombre de vaches (CCS < } 300 \times 10^3 \text{ cellules/ml avant tarissement)}}$$

Le rapport **2**, est un indicateur de guérison des infections au tarissement :

- o bon, s'il est > 70% ,
- o mauvais, s'il est < à 50%.

$$2 = \frac{\text{nombre de vaches (CCI > à } 300 \times 10^3 \text{ au tarissement et CCI < } 300 \times 10^3 \text{ au vêlage)}}{\text{nombre de vaches (CCI > } 300 \times 10^3 \text{ cellules/ml au tarissement)}}$$

IV.2.2.3. Taux cellulaire de tank (NCT) :

Le taux cellulaire de tank exprime la concentration cellulaire par ml d'un échantillon de lait prélevé en pratique 2 à 6 fois par mois.

La corrélation (r) qui existe entre le NCT et le taux d'infection de quartiers ou de vaches dans le troupeau est faible. Selon Hill (1991) ; Faroult (1994) et Hanzen (2000), celle ci est de l'ordre de 0,64 et ne reflète pas toujours l'exactitude de la réalité épidémiologique de l'infection.

Selon Schuckken et al. (1989), les mammites cliniques présentent un problème majeur car elles sont toujours accompagnées de valeurs de NCT faibles, dans la mesure où le lait est écarté de la collecte

Néanmoins, certaines corrélations ont été avancées :

- Serieys (1985) rapporte que le pourcentage de quartiers infectés dans le troupeau est égal à :
 - 3 à 7% pour un NCT de 200×10^3 cellules/ml.
 - 8 à 12 % pour un NCT de 400×10^3 cellules/ml.
 - 20 à 25% pour un NCT de 800×10^3 cellules/ml.
- Poutrel (1985) estime qu'une concentration en cellules somatique du lait de tank supérieure à 500×10^3 cellules/ml signifie qu'environ 20% des quartiers sont infectés.

Selon Westgarth (1975), la concentration en cellules somatiques du lait de mélange d'un troupeau dépend essentiellement de deux facteurs :

- 1- le nombre de quartiers infectés les jours de la numération cellulaire.
- 2- l'intensité de la réaction inflammatoire.

Le taux cellulaire de tank doit donc être utilisé comme un moyen d'estimation fort général et approximatif de la fréquence des mammites dans l'exploitation. Plus qu'une valeur individuelle ponctuelle, il est de loin préférable d'analyser l'évolution du NCT au cours du temps et de calculer des moyennes géométriques.

1. Moyennes géométriques calculées sur 12 mois :

La moyenne mobile donne une bonne idée de l'incidence des mammites sub-cliniques et/ou cliniques dans le troupeau. Elle est calculée en prenant tous les résultats obtenus au cours des 12 mois précédents. Cependant, elle ne permet d'identifier, ni les variations saisonnières ou celles imputables à la distribution des vêlages, ni d'amélioration puisque celle-ci doit avoir été observée pendant 6 mois au moins pour être détectée.

2. Moyennes géométriques calculées sur 03 mois :

La moyenne mobile permet de mieux indiquer la mauvaise maîtrise des infections par l'éleveur et la pénalité encourue qui apparaît après 3 contrôles supérieurs à 400×10^3 cellules/ml Faroult (1994). Elle est calculée en prenant tous les résultats obtenus au cours des 3 mois précédents et la valeur « critère » de 400×10^3 cellules/ml peut être considérée comme suffisamment discriminante. Selon que la moyenne géométrique du NCT est supérieure ou non à 400×10^3 cellules/ml, il faudra ou non suspecter une enzootie de mammites sub-cliniques.

Le terme d'enzootie suppose :

- d'une part, un grand nombre de quartiers atteints au cours du temps,
- et d'autre part, une atteinte régulière sur une longue période.

Toutefois, et selon Hanzen (2000), il est recommandé de pondérer cette valeur « critère » dans les cas extrêmes, des petits et des grands troupeaux, pour lesquels ce paramètre peut perdre de sa pertinence :

- L'effet d'un individu peut le perturber de façon importante dans le premier cas (cet effet est toutefois atténué par l'utilisation d'une moyenne géométrique) ;
- l'effet du troupeau (dilution) doit parfois être pris en compte dans le second cas.

3. L'interprétation du NCT :

Elle est délicate et doit tenir compte des mêmes causes de variation que celles déjà évoquées pour le CCI (Hanzen, 2000).

Nombreux sont les facteurs qui peuvent influencer le taux cellulaire de tank, Néanmoins, la sévérité des infections subcliniques et les organismes responsables sont les plus impliqués (Hill, 1991). Les infections à *Streptococcus agalactiae* induisent des taux cellulaires supérieurs à ceux induits par *Staphylococcus aureus*. Ainsi les vaches infectées de manière subclinique peuvent se trouver en même temps en phase haute ou basse d'élimination cellulaire (cette probabilité diminue quand le nombre de vaches augmente). et le nombre de quartiers atteints lui aussi peut également varier au cours du temps.

Cependant, certaines variations peuvent être observées en l'absence d'un problème de mammites.

Un stress quelconque (chien, changement de trayeur...) peut induire une augmentation massive mais temporaire du taux cellulaire.

La NCT peut être normalement plus élevée à un moment donné, lorsque les vêlages sont groupés ou lorsque un nombre important de bêtes se trouve simultanément en fin de lactation.

Une brusque augmentation de la NCT peut refléter indirectement un relâchement dans la méthode de détection des mammites ou de l'hygiène de la traite.

Les variations journalières sont quant à elles compensées par le fait que le tank à lait renferme habituellement le lait de plusieurs traites.

Un prélèvement effectué dans la graisse d'un lait non agité s'accompagne habituellement d'un résultat positif (les polymorphonucléaires sont lipophiles).

L'analyse souffre d'imperfections bien qu'un protocole strict est appliqué en laboratoire et les différences tolérées entre deux échantillons d'un même lait de tank, bien agité, sont de l'ordre de 5 %. L'allongement du délai d'analyse peut également contribuer à diminuer le taux cellulaire (8 % au bout de 15 jours de stockage) (Hanzen, 2000).

Selon Le Roux (1999), l'évaluation de la situation sanitaire d'un élevage repose sur les taux cellulaires moyens (de lait de tank) suivants :

- 200 000 cell/ml < bon
- 200 000 cell/ml < moyen < 400 000 cell/ml,
- 400 000 cell/ml < préoccupant < 600 000 cell/ml,
- > 600 000 cell/ml prévoir de nombreuses réformes.

En général, on pourra retenir deux valeurs :

- une valeur inférieure à 250 000 cell/ml qui laisse supposer « un état sanitaire satisfaisant »,
- Une valeur supérieure à 500 000 cell/ml qui permet de révéler la présence de mammites (Hanzen, 2000).

La communauté européenne a défini la norme du NCT < à 400 000 cellules par ml pour la commercialisation du lait avec l'objectif d'un NCT < 250 000 cellules/ml qui reflète un lait de bonne qualité donc un bon état sanitaire du troupeau. Au Canada et aux USA tolèrent des seuils de concentration cellulaire de 500 000 et 750 000 cellules par ml respectivement. En revanche en New Zealand ce seuil est de 300000 cellules par ml .

PARTIE EXPERIMENTALE

Objectifs

Notre étude s'inscrit dans un contexte d'essai d'utilisation de l'une des méthodes de mesure de la concentration cellulaire directe et son application pour prospecter et dépister les infections mammaires dans nos élevages.

Le présent travail s'est donc fixé trois objectifs :

OBJECTIF 1 : Utilisation et maîtrise d'une méthode de mesure de la concentration cellulaire.

Pour répondre à cet objectif, nous avons utilisé un appareil « coulter counter », conçu pour le dénombrement des particules en suspension, pour le comptage des cellules somatiques du lait.

OBJECTIF 2 : Application de cette méthode de comptage sur le lait individuel de vache

Pour répondre à cet objectif, nous avons fait un dépistage systématique par la détermination des taux cellulaires individuels et l'analyse bactériologique de lait de quartier.

OBJECTIF 3 : Application de cette méthode de comptage sur le lait de Tank.

Pour répondre à cet objectif, nous avons fait un suivi par comptage cellulaire et analyse bactériologique de lait de mélange afin de caractériser le statut infectieux des troupeaux et d'estimer les pertes en lait.

MATERIELS & METHODES

Pour répondre à l'objectif 1, en l'occurrence, **l'utilisation et la maîtrise d'une méthode de numération cellulaire directe, utilisant un appareil dénombrement des particules en suspension « coulter counter » pour le comptage des cellules somatiques du lait**, nous avons procédé à la démarche suivante :

- Etalonnage de l'appareil.
- Maîtrise de la technique de préparation des échantillons
- Détermination de la fiabilité et de la répétabilité des résultats.

1. CHOIX DE LA METHODE :

Notre choix s'est porté sur l'emploi d'une méthode de numération cellulaire utilisant un appareil de type COULTER (méthode normalisée par la fédération internationale des laiteries en 1995) pour les raisons suivantes :

- Moins coûteuse et économique (coût réduit de l'appareil et des produits consommables), compatible avec nos moyens financiers.
- Rapide et ne nécessitant pas une grande technicité.

2 DESCRIPTION DE L'APPAREIL :

L'appareil utilisé est un compteur électronique de particules et analyseur des tailles de type COULTER, modèle Z₂.

Vu de face, l'appareil est constitué de l'analyseur et d'un module compact ou clavier de commande.

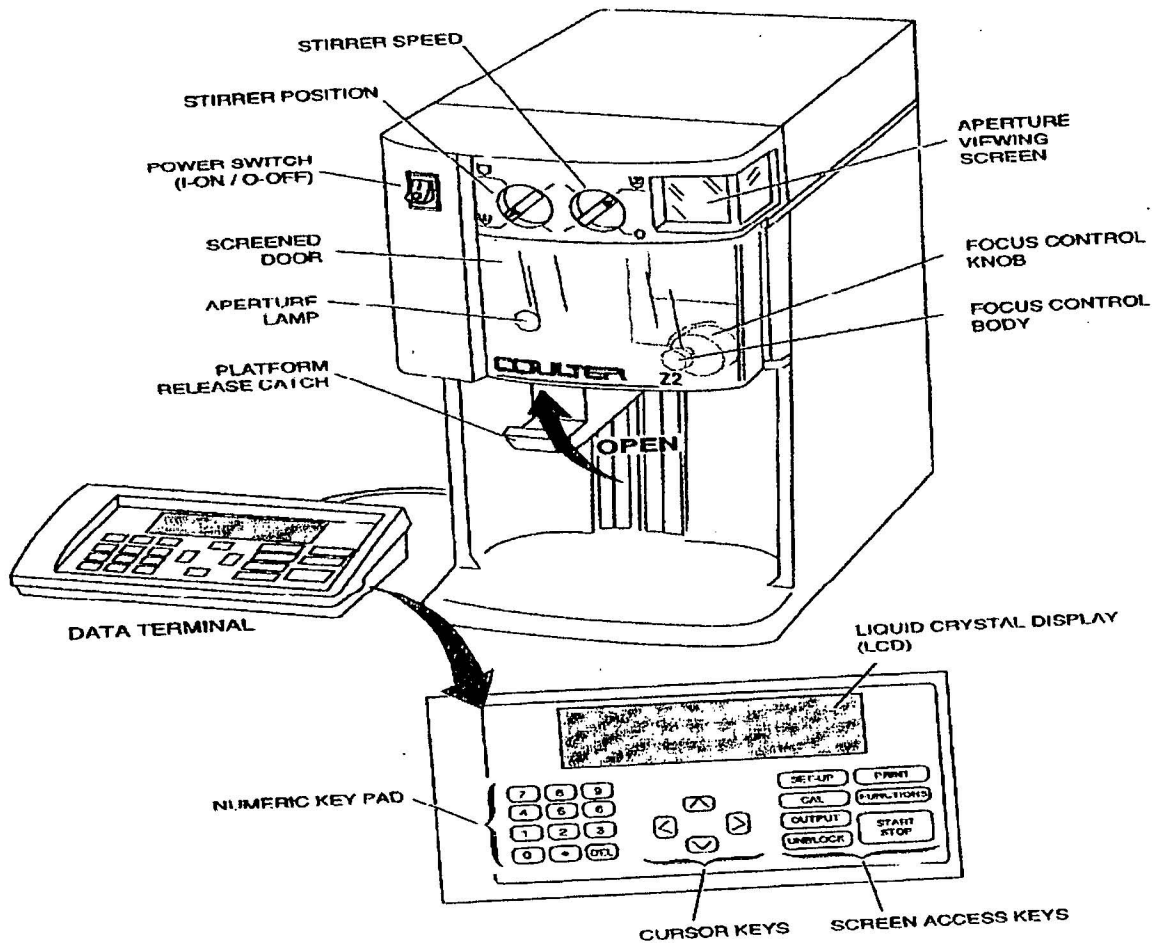
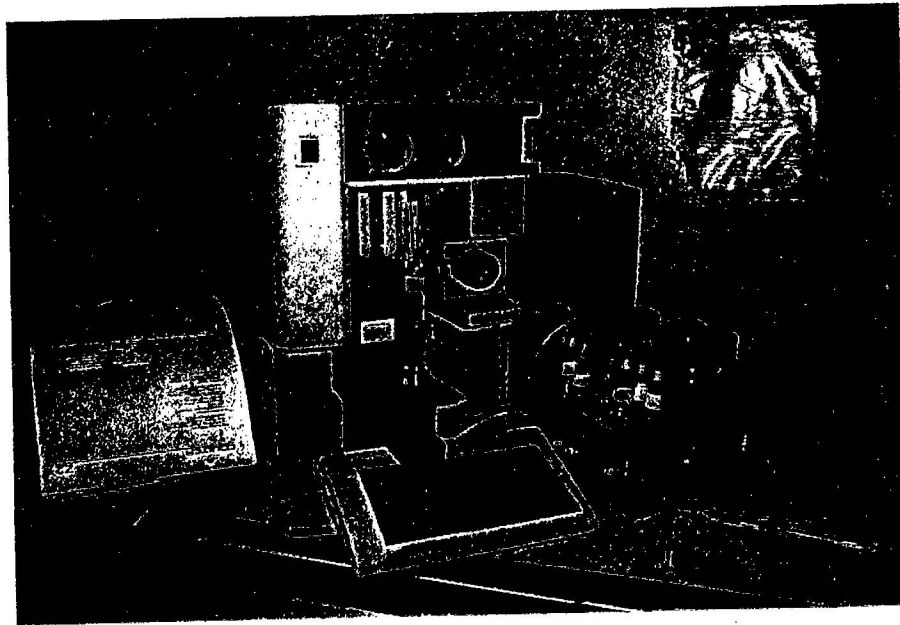


Figure 23 : Photographie et représentation schématique du Coulter counter modèle Z2 ,vue frontale.

La vue dorsale montre les connexions d'alimentation électrique et de l'imprimante ainsi que les tuyaux reliant l'appareil aux flacons de diluant et de déchets.

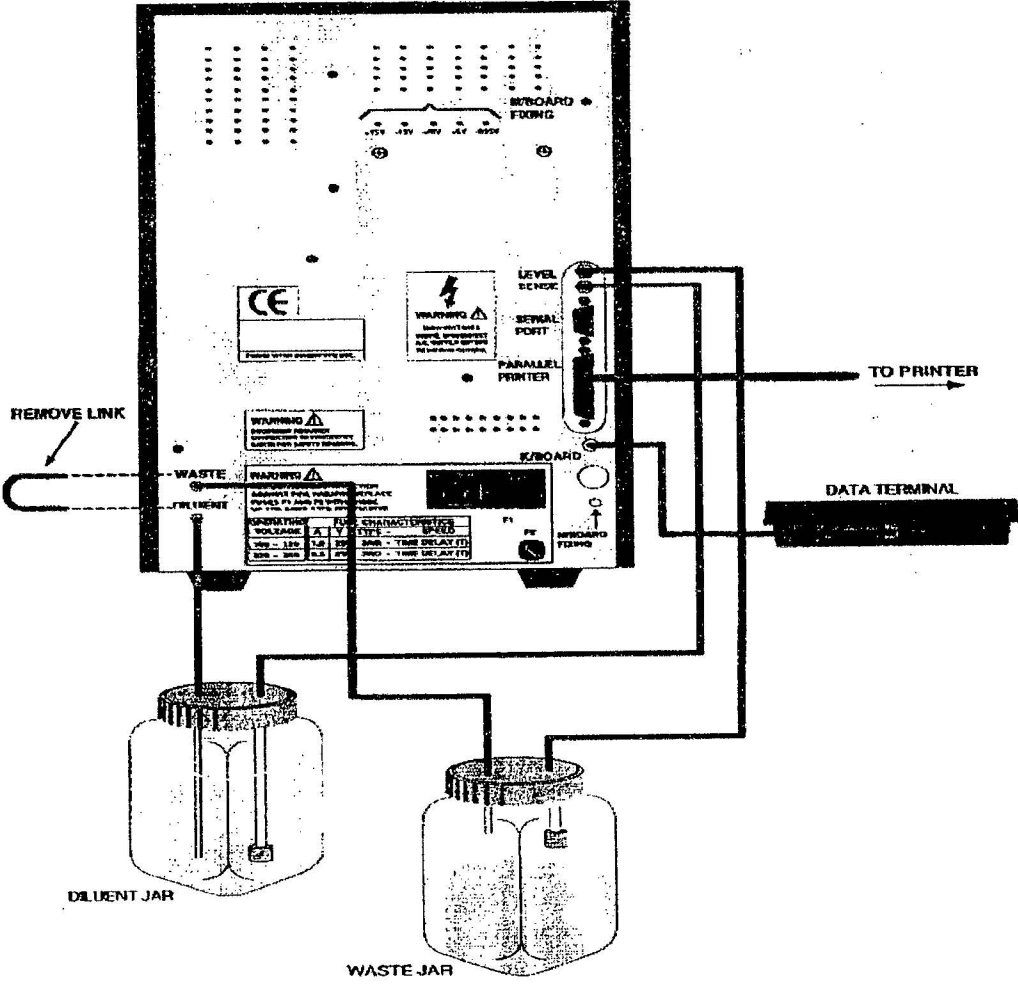
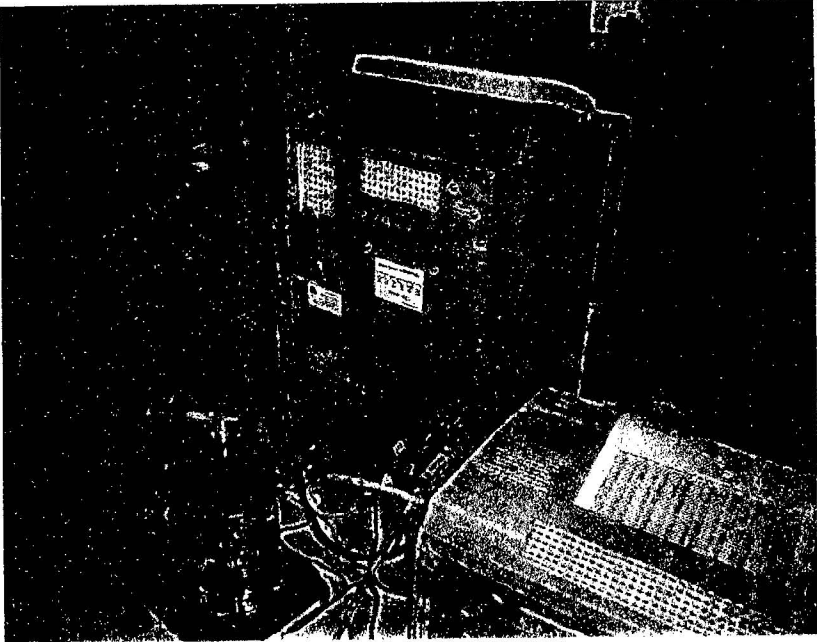


Figure 24 : Photographie et représentation schématique du coulter counter modèle Z2 : vue dorsale.

L'analyseur comporte une partie protégée par une porte en plexiglas isolant le compartiment du tube à orifice.

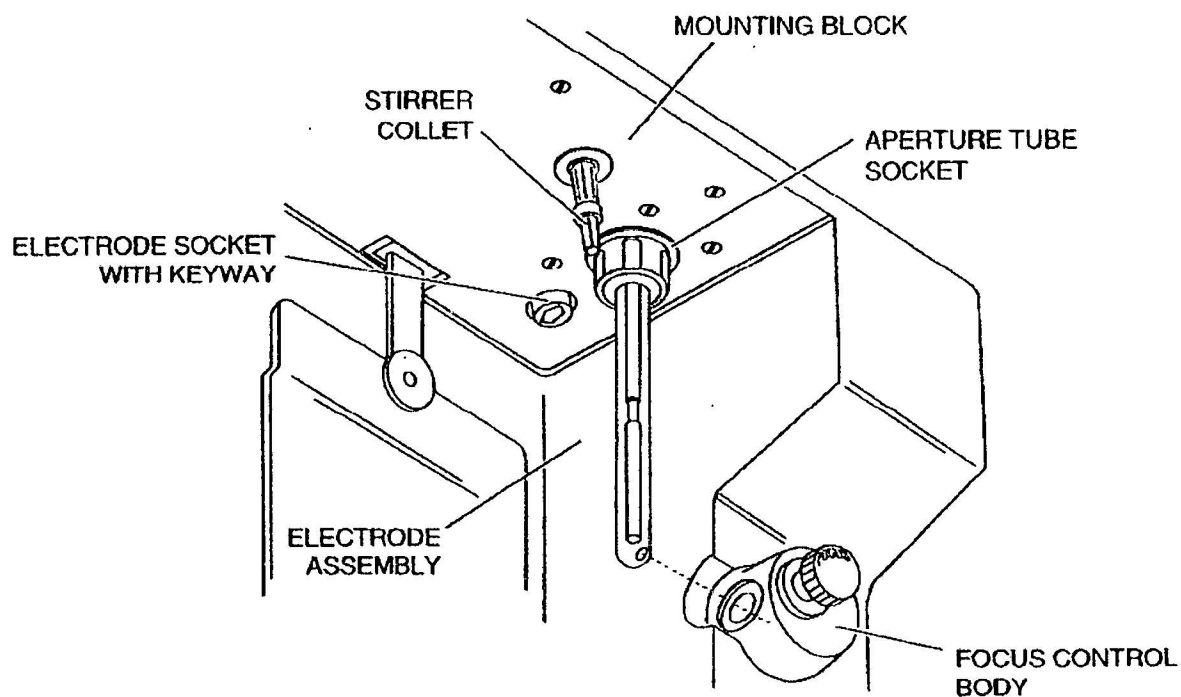
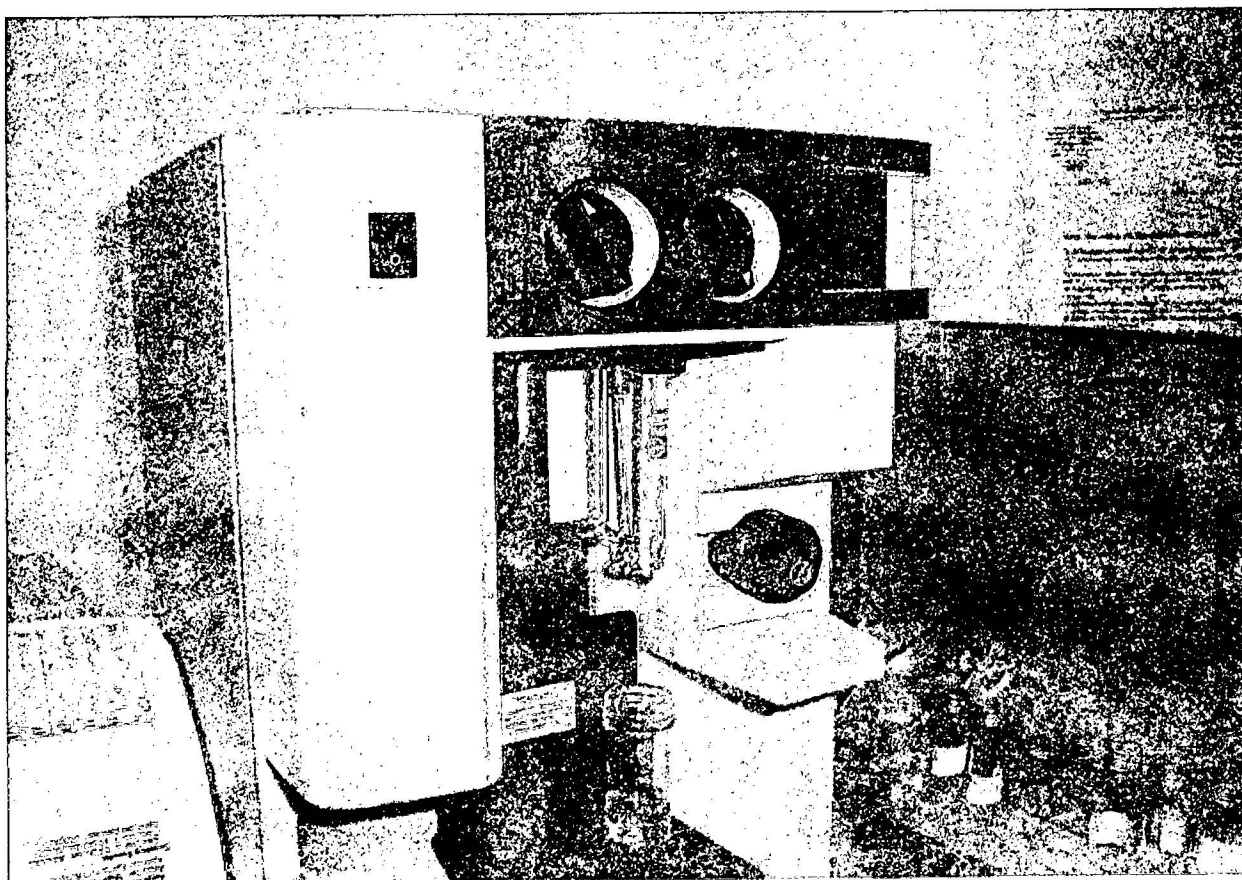


Figure 25 : Emplacement des différents segments : tube à orifice, électrode, mélangeur, focus.

Le compartiment est composé :

- de la sonde en verre munie d'un tube à orifice (100 μ de diamètre) et d'une électrode incorporée,
- d'une électrode externe,
- d'un mélangeur de l'électrolyte à analyser,
- d'un focus placé juste en face de l'orifice permettant la visualisation et le contrôle d'éventuel bouchage de l'orifice qui sera affiché sur l'écran.

3. Principe de fonctionnement :

Le coulter est un appareil qui détermine, en fonction de leurs dimensions, le nombre de particules en suspension dans un électrolyte. Un dispositif d'aspiration reliée à la sonde oblige la suspension d'électrolyte à analyser à passer par l'orifice situé entre les deux électrodes entre lesquelles passe un courant électrique. Lorsqu'une particule passe par cet orifice elle déplace son propre volume d'un liquide fortement conducteur par rapport à une conductivité inférieure comme expliqué schématiquement ci dessous.

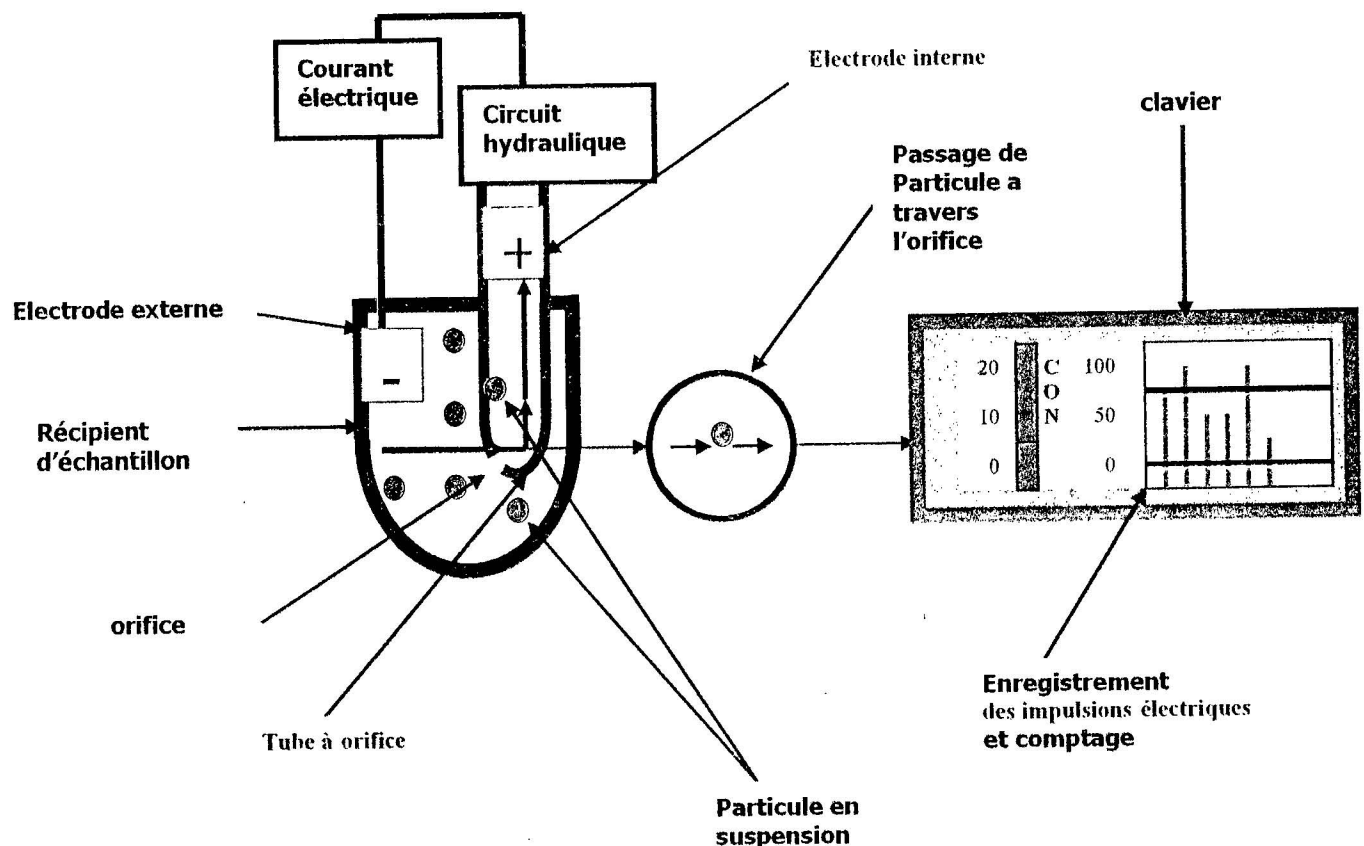


Figure 26 : Représentation schématique du principe de fonctionnement du COULTER

Ce passage permet de modifier la résistance électrique du milieu et par conséquent l'intensité du courant entre les électrodes qui se traduit par une impulsion dont l'intensité est proportionnelle au volume de la particule. Chaque impulsion est comptée électroniquement.

Un autre dispositif spécial commande la durée du comptage correspondant à un volume exactement connu de la suspension

4. ETALONNAGE DE L'APPAREIL :

Une fois l'appareil installé, une opération de calibrage primaire est effectuée au moyen de particules en latex à la concentration de 2×10^6 particules/ml et un diamètre de 10 μ m.

Cette opération est suivie par une détermination de la relation entre le volume des particules à dénombrer et le seuil au-dessus duquel les numérations doivent être effectuées

La deuxième étape ou calibrage secondaire consiste à fixer un diamètre ou seuil de lecture correspondant à la taille moyenne des cellules du lait que l'appareil doit prendre en considération pour le comptage. Nous avons donc utilisé un seuil minimal de 5 μm , diamètre couramment utilisé et rapporté par Grapin et Jeunet (1971) et Hanzen (2000).

5. PREPARATION DES ECHANTILLONS :

Elle a été faite conformément à la technique rapportée par la FIL (1995), mise au point par TOLLE (1966), appliquée au COULTER par Grappin et Jeunet (1971) et modifiée par l'INRA de Tours (France 2000) et actuellement employée dans les laboratoires CECALAIT (France) pour le contrôle laitier.

Le principe de la technique consiste à éliminer l'influence de la matière grasse par dispersion des globules gras dont la taille est supérieure ou égale à 5 μm qui peuvent interférer avec les cellules en suspension dans le lait lors du comptage.

Fixation :

Un aliquote de 10 ml de lait est additionné de 0,2 ml de formol à 35 % et laissé en contact pendant 24 h à température ambiante. Cette première étape permet à la membrane cytoplasmique des cellules d'accueillir une certaine résistance et d'éviter l'éventuelle destruction des cellules lors du traitement à la chaleur

Dilution :

Un aliquote de 0,1 ml de l'échantillon fixé est dilué au centième, c'est à dire, additionnée de 9,9 ml d'électrolyte (mélange d'éthanol et d'émulsifiant, Cf. annexe 1) filtré au préalable à travers deux membranes, l'une à 0,45 μm et l'autre à 0,22 μm de façon à renfermer moins de 100 particules/ml. La dilution ainsi obtenue est chauffée à 80 °C au bain-marie pendant 10 minutes.

L'action conjuguée de l'éthanol, de l'émulsifiant et de la chaleur entraînent une clarification du milieu par dispersion des globules gras en particules très fines, stables rendant possible le comptage sélectif des cellules.

Cependant, comme rapporté par Phipps (1968), le traitement du lait par cette technique entraîne une diminution de la taille moyenne des cellules devant être pris en considération pour le choix du seuil de lecture lors de l'étalonnage de l'appareil.

6. FIABILITE DES RESULTATS ET REPETABILITE DE LA METHODE :

La répétabilité ou fidélité est définie par les résultats successifs obtenus par un seul opérateur travaillant dans un laboratoire donné avec le même appareil et la même méthode sur un produit identique soumis à l'essai. Sa mesure est obtenue par la répétition des tests pour le ou les mêmes échantillons.

Pour vérifier si notre appareillage est bien étalonné et si nos résultats (lait de quartier) sont fiables et répétables, nous avons :

- pratiqué un test CMT et un comptage pour classer trente échantillons en fonction de leur concentration cellulaire,
- A partir des prélèvements de chaque classe ainsi définie, nous avons réalisé pour chacun 5 dilutions pour laquelle deux comptages ont été faits (Cf. schéma récapitulatif du protocole expérimental) :

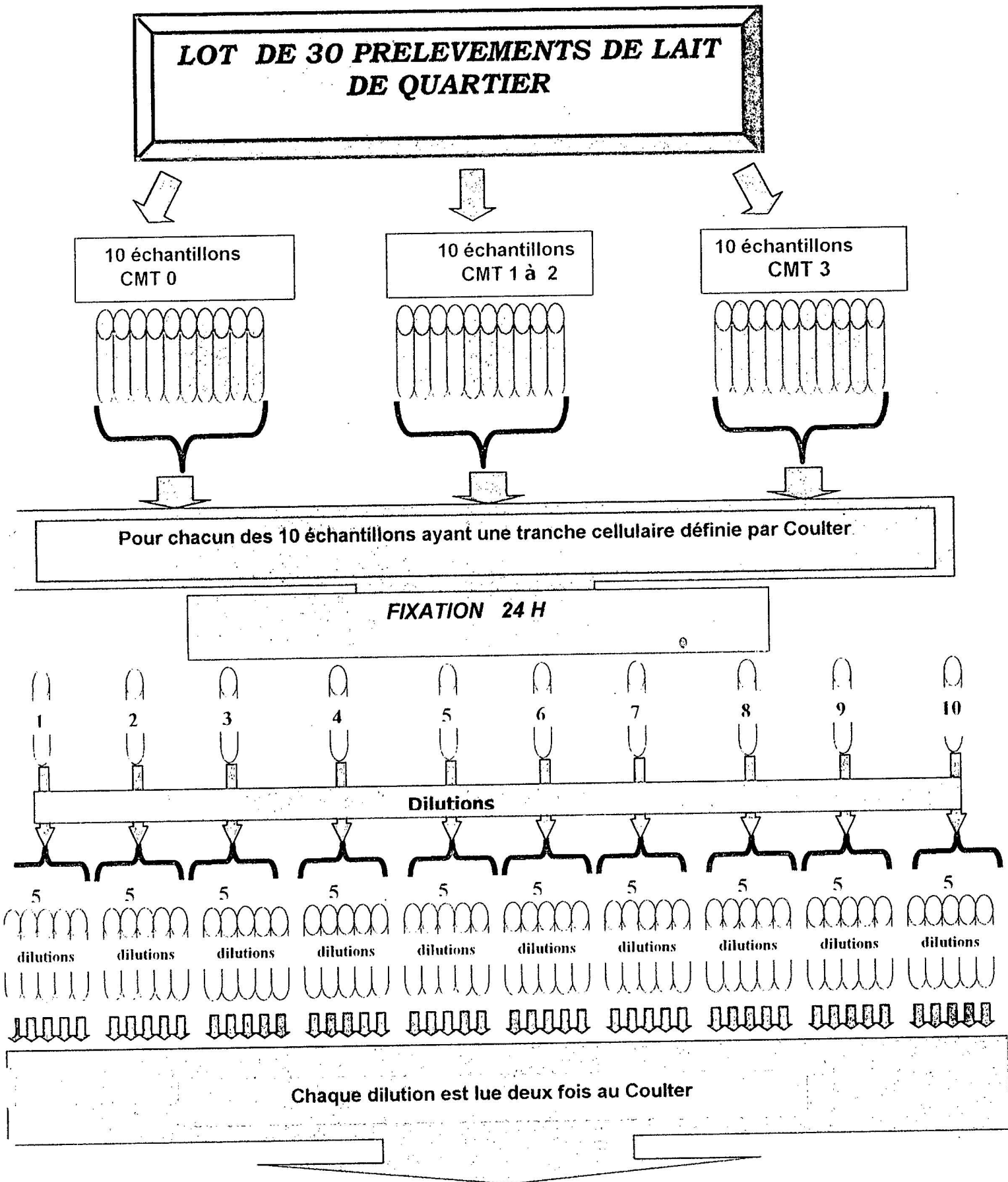


Figure 27: Représentation schématique du protocole de préparation des échantillons

7. ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES :

Une analyse statistique par déduction du coefficient de corrélation et estimation de la variance sur les logarithmes népériens des concentrations obtenues intra-dilutions et entre dilutions a été faite au moyen du logiciel SAS (Statistical Analysis System, version 1987).

Pour répondre à l'objectif 2, en l'occurrence, **l'application de cette méthode de comptage sur lait individuel de vache**, un suivi par détermination systématique des taux cellulaires individuels et analyse bactériologique de lait de quartier d'un troupeau.

Choix du troupeau (animaux) :

Le choix du troupeau été fait sur les critères suivants :

- La proximité (10 km) par rapport au laboratoire d'analyses.
- L'effectif du troupeau (64 vaches dont 42 en lactation) compatible avec nos moyens d'analyses, beaucoup plus bactériologiques et qui reflète la moyenne des élevages de la région de la Mitidja.

Recueil des informations sur fiche signalétique :

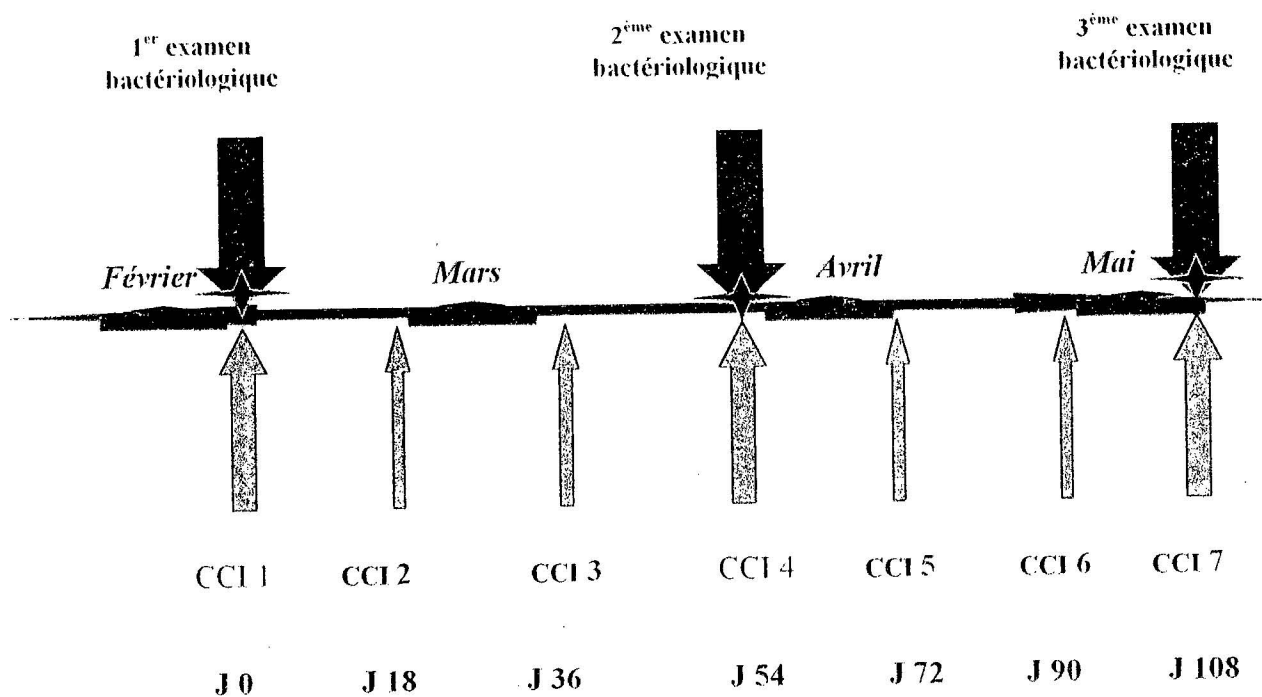
La collecte des informations relatives à la date de vêlage, de tarissement, du stade et du rang de lactation, à la production laitière journalière ainsi que les antécédents des vaches pour les infections mammaires et toute autre pathologie fréquente, a été faite à partir du registre de l'étable.

Un enregistrement systématique des cas cliniques a été réalisé à chaque passage.

Prélèvement de lait :

Un prélèvement de lait individuel a été réalisé aseptiquement pour le comptage cellulaire et l'examen bactériologique pendant la période de février à mai 2002, selon le protocole suivant :

PROTOCOLE DE PRELEVEMENT N° 1



Comptage cellulaire :

Les prélèvements sont réalisés chaque 18 jours, à partir de lait individuel de vache (mélange des quatre quartiers) et de troupeau.

Le lait est recueilli dans des flacons stériles en plastique de 60 ml, juste avant la traite du soir, après un nettoyage complet des quatre quartiers et élimination des premiers jets, ensuite acheminés au laboratoire de biologie clinique dans une glacière à + 4°C.

Chaque prélèvement est fixé le jour même puis analysé 24 h après.

Examen bactériologique :

Les prélèvements sont réalisés à J 0, J 54 et J 108, à partir de lait individuel de quartier.

Toutefois, il faut signaler que nous avons prélevé des échantillons de lait, à quelques jours de J 108 pour 5 vaches devant entrer en tarissement que nous avons congelé pour le troisième passage de l'examen bactériologique.

Le lait est recueilli aseptiquement quartier par quartier dans des flacons stériles en plastique de 60 ml, juste avant la traite du soir pour toutes les vaches après désinfection de l'extrémité du canal du trayon à l'aide d'une compresse imbibée d'alcool à 70° et élimination des premiers jets, ensuite identifié et immédiatement congelé à (- 20°C).

La recherche et la caractérisation des germes (staphylocoques, streptocoques et coliformes) a été faite à l'institut Pasteur d'Alger.

Analyse statistique :

L'analyse des données a été faite par le model SAS (statistical analyser system) après transformation en logarithmes les nombres de données.

Traitement et interprétation des données :

- Pour classer le cheptel expérimental en fonction du statut infectieux, nous considérons qu'une vache est :

(1) « non infecté » : Lorsqu'il y a absence de signes cliniques et que l'examen bactériologique est négatif pour les quatre quartiers.

(2) « infectée durablement » : Lorsque deux diagnostics bactériologiques au moins indiquent la présence, dans un même quartier, le même germe pathogène (mineur ou majeur) avec présence ou absence de signes cliniques.

(3) « infectée Brièvement » : Lorsque l'infection se réduit essentiellement à sa phase clinique avec zéro ou un seul diagnostic bactériologique indiquant la présence d'un pathogène mineur ou majeur.

- Pour le calcul des critères d'appréciation des tests pour le diagnostic par le comptage cellulaire :

La sensibilité : d'un diagnostic est la probabilité d'obtenir un résultat positif pour un animal réellement infecté :

$$Se = \frac{VP}{VP + VN}$$

VP: vrai positif.
VN: vrai négatif.

La spécificité : d'un diagnostic est la probabilité d'obtenir un résultat négatif pour un animal réellement non infecté :

$$Sp = \frac{VN}{VN + VP}$$

VN: vrai négatif
VP: vrai positif

Pour répondre à l'objectif 3, en l'occurrence, **l'application de cette méthode de comptage sur lait tank (troupeau)**, un suivi par comptage cellulaire et analyse bactériologique de lait de mélange a été réalisé pour caractériser le statut infectieux des troupeaux et estimer les pertes en lait.

Choix des élevages :

Notre choix s'est porté sur 22 élevages de la région de la Mitidja, parmi ceux (environ 200) qui livrent leur production à la laiterie de Beni Tamou, dicté pour les raisons suivantes :

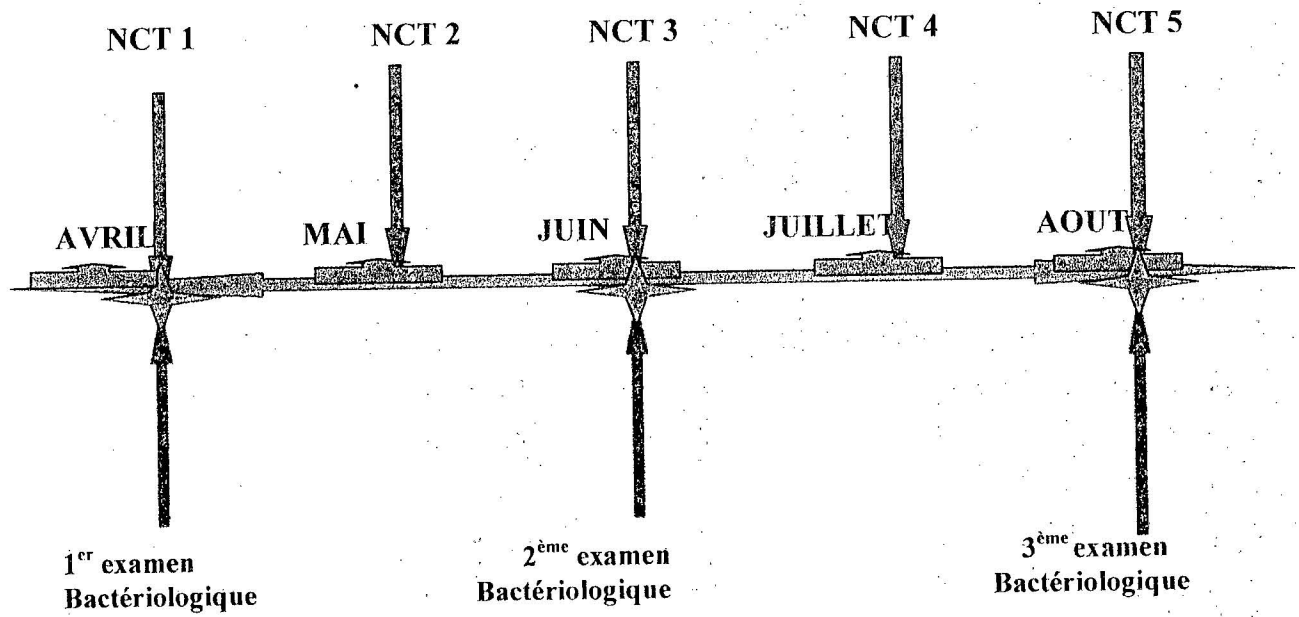
- Effectif minimal de 20 vaches en lactation,
- Disposant d'un tank réfrigéré.

Prélèvement de lait :

Les échantillons de lait sont prélevés selon le protocole ci dessous :

- Mensuellement pour le comptage cellulaire, durant cinq mois (Cf protocole 2) à partir du tank à lait contenant la traite de la veille et celle du matin de la collecte, par le technicien de la laiterie après une homogénéisation, dans des flacons stériles et stockés dans une glacière et acheminés au laboratoire de l'ISV.
- Bi-mensuellement pour l'examen bactériologique.

PROTOCOLE DE PRELEVEMENT N° 2



Analyse des données :

L'analyse des données a été faite au moyen du logiciel SAS (statistical analysis system) selon les modèles statistiques décrits pour l'estimation des pertes :

- Pertes quantitatives : modèle normatif rapporté par Seegers et al (1999) et Mataalah (2000), selon la formule suivante :

$$P (\%) = (NCT - 200.000) / 100.000 \times 0,02$$

(P = perte ; NCT = numération cellulaire de tank).

Elle signifie qu'une perte de 2 % en lait par tranche de 100 000 cellules au delà d'un taux > à 200.000 cellules/ml.

- Pertes qualitatives :

- Les pertes de la matière protéique (rapport C / MAT) sont estimées par l'équation de régression linéaire rapportée par Mathieu et al (1985) et Mataalah (2000), selon la formule suivante :

$$C / MAT = -2,06 \log (NCT) + 89,47$$

(C = caséines du lait , MAT = matière azotée , NCT = numération cellulaire de tank)

La diminution de ce rapport débute vers 200 à 300 000 cell/ml

- Les pertes de la matière grasse sont estimées selon le modèle utilisé par Roguinsky (1978) et Mataalah (2000) ,selon la formule suivante :

$$P = \frac{NCT}{1\ 000\ 000\ \text{cell/ml}}$$

P = perte de matière grasse (g/l), NCT = numération cellulaire de tank.

RESULTATS

RESULTATS DE L'OBJECTIF I :

Les résultats du comptage cellulaire des échantillons de lait analysés sont rapportés dans le tableau XV.

Ils montrent que les concentrations cellulaires varient :

- Pour le score CMT 0, de :
 - o 72 400 à 264 500 cellules/ml, avec une moyenne de 156 046 cellules/ml pour la lecture 1.
 - o 76 000 à 262 400 cellules/ml, avec une moyenne de 152 626 cellules/ml pour la lecture 2.
- Pour le score CMT 1 à 2, de :
 - o 290×10^3 à $822,2 \times 10^3$ cellules/ml, avec une moyenne de 581 884 cellules/ml pour la lecture 1.
 - o 298×10^3 à $822,2 \times 10^3$ cellules/ml, avec une moyenne de 572 218 cellules/ml pour la lecture 2.
- Pour le score CMT 3, de :
 - o $890,8 \times 10^3$ à $2 575 \times 10^3$ cellules/ml, avec une moyenne de 1 338 025 cellules/ml pour la lecture 1.
 - o $857,8 \times 10^3$ à $2 586 \times 10^3$ cellules/ml, avec une moyenne de 1 340 160 cellules/ml pour la lecture 2.

Tableau XV : Résultats du comptage cellulaire et du test CMT des échantillons de lait analysés.

N°	Echantillon	CMT 0						CMT 1 à 2						CMT 3											
		Lecture 1	Lecture 2	Log n(1)	Log n(2)	Lecture 1	Lecture 2	Log n(1)	Log n(2)	Lecture 1	Lecture 2	Log n(1)	Log n(2)	Lecture 1	Lecture 2	Log n(1)	Log n(2)								
1	dilution	169400	162000	12.04	11.9954	819600	783400	13.6166	13.5714	924400	999200	13.7369	13.8147	174200	177400	12.068	12.0862	808200	735000	13.6026	13.5076	921000	920100	13.7332	13.7322
	1	180000	161600	12.1007	11.9929	768400	753000	13.5521	13.5318	929000	926000	13.7419	13.7386	162800	174600	12.0003	12.0703	822200	784200	13.6197	13.5724	922000	910200	13.7343	13.7214
	2	173100	184400	12.0616	12.1249	766400	756800	13.5495	13.5369	956000	911000	13.7705	13.7223	176700	177600	12.0822	12.0873	354400	317200	12.7782	12.6673	1105000	1080000	13.9154	13.8925
	3	160300	170800	11.9848	12.0482	346800	340000	12.7565	12.7367	999000	999000	13.8145	13.8145	183900	174000	12.1221	12.0668	376400	373400	12.8384	12.8304	1100000	1130000	13.9108	13.9377
	4	147500	187200	11.9016	12.1399	320000	345000	12.6761	12.7513	1210000	1090000	14.0061	13.9017	191100	190400	12.1606	12.1569	320000	328000	12.6761	12.7008	1107000	1160000	13.9172	13.9639
2	1	194700	183600	12.1792	12.1205	310200	320000	12.645	12.6761	2517000	2580000	14.7386	14.7633	198300	188800	12.1975	12.1378	301400	302600	12.6162	12.6202	2575000	2578000	14.7614	14.7625
	2	231900	160000	12.3541	11.9829	329600	313000	12.7056	12.654	2545000	2563000	14.7496	14.7567	225500	173200	12.3261	12.0622	350800	347000	12.768	12.7571	2575000	2586000	14.7614	14.7656
	3	219100	196400	12.2973	12.1879	359000	342320	12.7911	12.7435	2532000	2500000	14.7445	14.7318	121200	120000	11.7052	11.6952	369200	357800	12.8191	12.7877	1391000	1398000	14.1455	14.1506
	4	72400	76000	11.19	11.2385	373600	385200	12.8309	12.8615	1389000	1392000	14.1441	14.1463	74000	78500	11.2118	11.2709	379200	380000	12.8458	12.8479	1398000	1397000	14.1506	14.1498
	5	75600	78000	11.2332	11.2645	390200	385200	12.8744	12.8615	1388000	1380000	14.1434	14.1376	75800	79000	11.2359	11.2772	429000	410000	12.9692	12.9239	1374000	1370000	14.1332	14.1303
3	1	211400	210000	12.2615	12.2549	337600	389200	12.7296	12.8718	954400	957000	13.7688	13.7716	222400	213600	12.3122	12.2719	299300	310000	12.6092	12.6443	951000	958700	13.7653	13.7733
	2	220000	210000	12.3014	12.2549	345000	358000	12.7513	12.7883	956000	958000	13.7705	13.7726	240000	227000	12.3884	12.3327	326200	335000	12.6953	12.7219	959000	957000	13.7736	13.7716
	3	231000	220000	12.3502	12.3014	290000	298000	12.5776	12.6048	953800	952000	13.7682	13.7663	261700	261800	12.475	12.4753	651000	628000	13.3863	13.3503	2140000	2218000	14.5763	14.6121
	4	257500	258600	12.4588	12.463	630000	615000	13.3535	13.3294	2274000	2220000	14.6371	14.613	264500	262400	12.4856	12.4776	658000	632000	13.397	13.3566	2289000	2190000	14.6436	14.5994
	5	261000	259000	12.4723	12.4646	601000	612000	13.3064	13.3245	2230000	2220000	14.6175	14.613	259000	260000	12.4646	12.4684	643000	656000	13.3739	13.3939	2210000	2240000	14.6085	14.622

Les résultats des échantillons de laits estimés par le test CMT et analysés par COULTER sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau XVI: Comparaison des valeurs obtenues par COULTER et CMT.

California Mastitis Test (d'après SCHALM & NOORLANDER, 1957)				Comptage au COULTER (cellules/ml)		
Score	minimum	Moyenne	maximum	minimum	Moyenne	maximum
0	0	100 000	200 000	72 400	154 336	264 500
1 – 2	200 000	600 000	800 000	290 000	577 051	822 200
3	800 000	2 900 000	5 000 000	857 800	1 339 092,4	2 575 000

Nos résultats montrent que l'appareil donne des valeurs de concentrations cellulaires similaires à celles obtenues par le test CMT ; avec une bonne corrélation (coefficient de corrélation = **1,00**)

A partir des tranches cellulaires ainsi définies lors des comptages pour les dilutions (1 à 5, pour chaque échantillon) et lectures intra-dilutions (lecture 1 et 2), les résultats de l'analyse de la variance sur les logarithmes népériens sont rapportés par le tableau ci dessous.

Tableau XVII: Résultats de l'analyse des variances (30 laits x 5 dilutions x 2 lectures).

Tranches cellulaires	Intra-laits (entre dilutions) (n = 150)		Entre lectures (Intra-dilutions) (n = 300)		Répétabilité	
	Ecart type (cellules/ml)	CV %	Ecart type (cellules/ml)	CV %	CV%	[%]
72 400 à 264 500 (cellules/ml)	9273,57	4,32	11008,29	6,43	4,55	90%
290 x 10 ³ à 822,2 x 10 ³ (cellules/ml)	19749,49	0,23	21571,54	3,01	0,21	99%
857,8 x 10 ³ à 2 575 x 10 ³ (cellules/ml)	22145,56	0,15	26738,95	2,63	0,14	99%

Le coefficient de variation, des comptages est :

- Entre les dilutions (intra-laits), de :
 - 4,32 % pour la tranche cellulaire de 72 400 à 264 500 cellules/ml, avec des écarts de détermination de 9 273,57 cellules/ml.
 - 0,23 % pour la tranche cellulaire de 290 000 à 822 200 cellules/ml, avec des écarts de détermination de 19 749,49 cellules/ml.
 - 0,15 % pour la tranche cellulaire de 857 800 à 2 575 000 cellules/ml, avec des écarts de détermination de 22 145,56 cellules/ml.
- Entre les lectures (intra-dilutions), de :
 - 6,43 % pour la tranche cellulaire de 72 400 à 264 500 cellules/ml, avec des écarts de détermination de 11 008,29 cellules/ml.
 - 3,01 % pour la tranche cellulaire de 290 000 à 822 200 cellules/ml, avec des écarts de détermination de 21 571,54 cellules/ml.
 - 2,63 % pour la tranche cellulaire de 857 800 à 2 575 000 cellules/ml, avec des écarts de détermination de 26 738,95 cellules/ml.

En regroupant ces deux sources d'erreur, on obtient une répétabilité globale, exprimée par le coefficient de variation de :

- **4,55** pour la tranche cellulaire de 72 400 à 264 500 cellules/ml dans **90%** des cas.
- **0,21** pour la tranche cellulaire de 290 000 à 822 200 cellules/ml dans **99%** des cas.
- **0,14** pour la tranche cellulaire de 857 800 à 2 575 000 cellules/m dans **99%** des cas.

RESULTATS DE L'OBJECTIF II :

I. Etude descriptive.

1. Identification du cheptel expérimental :

L'analyse des renseignements à partir des fiches signalétiques individuelles et registre est rapportée dans le tableau suivant.

Tableau XVIII : Répartition du cheptel expérimental

	Race			Stade de lactation			Rang de lactation			Cas de mammites cliniques / an
	PN	PR	BA	≤ 60 j	60 -150 j	>150 j	1 ^{ere}	2 ^{ème}	> 3 ^{ième}	
Effectif	29	11	02	04	17	21	07	20	15	15

PN : pie noir ; **PR** : pie rouge ; **BA** : brune d'Alpe.

Les résultats montrent que :

- La race :
 - Prim'Holstein (PN) est prédominante : 29 vaches, soit 69 %.
 - Montbéliarde (PR) représente le quart : 11 vaches, soit 26 %.
 - Brune d'Alpes (BA) ne représente que 5%, soit 02 vaches.

- Le stade de lactation :
 - 21 vaches, soit 50 % sont en fin de lactation.
 - 17 vaches, soit 40 % sont en milieu de lactation,
 - 04 vaches, soit 10 % sont en début de lactation.

- Le rang de lactation :
 - 07 vaches, soit 17% sont en première lactation.
 - 20 vaches, soit 48% sont en deuxième lactation.
 - 15 vaches, soit 36% sont en troisième lactation.

- La consultation du registre d'étable a permis de révéler une très faible fréquence des mammites cliniques moins de **15 cas** par an.

2. EXAMEN BACTERIOLOGIQUE :

Les résultats des examens bactériologiques des 504 prélèvements analysés sont rapportés par passage.

Premier passage :

Les résultats sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau XIX : Répartition des quartiers en fonction de l'état d'infection et germes isolés lors du premier examen bactériologique.

	Statut infectieux des quartiers												Total au passage
	Non infecté		Infectés										
			Staph.		Strept.		E. Coli		Cult mixte		Total infectés		
Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%		
Quartier AD	23	55	14	74	00	00	03	16	02	10	19	28	42
Quartier AG	23	55	12	63	02	11	04	21	01	5	19	28	42
Quartier PD	29	69	10	78	00	00	02	15	01	7	13	19	42
Quartier PG	25	60	13	76	01	6	02	12	01	6	17	25	42
Total	100	60	49	29	03	02	11	06	05	03	68	40	168

Staph. : *Staphylococcus aureus* ; Strept. : *Streptococcus uberis*; E.Coli : *Escherichia coli* ; cult. mixte : Présence de deux germes, Nb : nombre ; % : pourcentage.

Les résultats montrent que :

- 100 quartiers sont non infectés, soit 60 %, répartis comme suit :
 - 23 AD, soit 55 %.
 - 23 AG, soit 55 %.
 - 29 PD, soit 69 %.
 - 25 PG, soit 60 % .
- 68 quartiers sont infectés, soit 40 % dont :
 - 19 AD, soit 45 % .
 - 19 AG, soit 45 %.
 - 13 PD, soit 31 %.
 - 17 PG, soit 40 %.

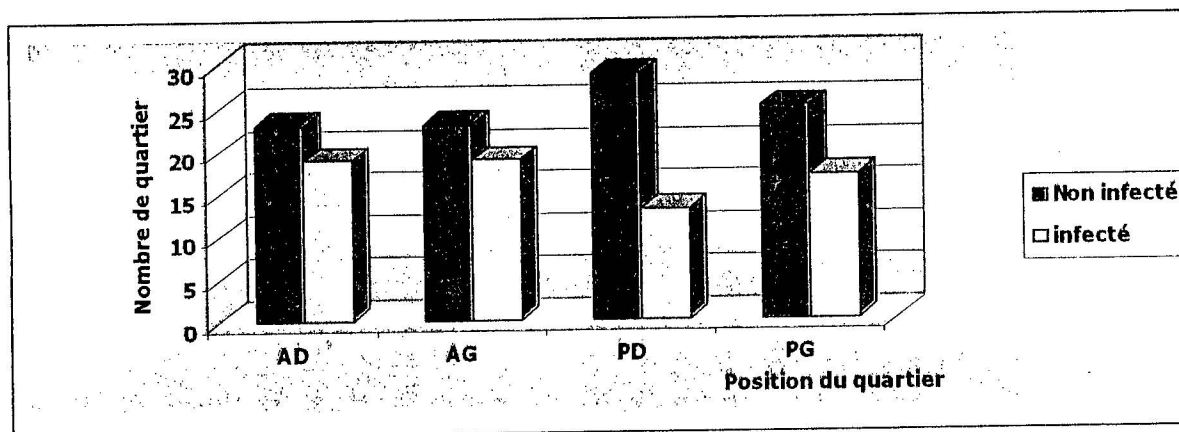


Figure 28 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés et non infectés au cours du premier examen bactériologique.

- o La répartition en fonction du germe isolé montre que :
 - 49 quartiers sont infectés par *staphylococcus aureus*, soit 29 %.
 - 11 quartiers par *Escherichia coli*, soit 06 %.
 - 03 quartiers par *Streptococcus uberis*, soit 2 %.
 - 05 quartiers par l'association de deux germes (02 *S. aureus* + *Escherichia coli*, 02 *S. aureus*+ *St. Uberis* et 01 *St. uberis* + *Escherichia coli*), soit 03 %.

Ces résultats traités par vache montrent que 9 vaches ne sont pas infectées contre 33 qui sont infectées, soit 79 % comme suit :

- 23 par *Staphylococcus aureus*, soit 70 %.
- 03 par *Escherichia coli*, soit 09 %.
- 02 par *Streptococcus uberis*, soit 06 %.
- 05 par l'association de deux germes dans le même quartier ou trois germes dans le même pis (02 *S. aureus*+ *St. Uberis*, 01 *S. aureus* + *Escherichia coli*, 01 *St. uberis* + 01 *Escherichia coli* + *S. aureus*, *E. coli* + *St. uberis*), soit 15 %.

La répartition des vaches en fonction du nombre de quartiers infectés et des germes isolés est rapportée dans le tableau ci dessous.

TableauXX : Répartition des vaches selon le nombre de quartiers infectés et germes isolés.

Nombre de quartiers infectés	<i>S. aureus</i>		<i>St. Uberis</i>		<i>E. Coli</i>		Cult mixte		Total	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
1 quartier	11	85	02	15	00	00	00	00	13	40
2 quartiers	07	64	00	00	01	09	03	27	11	33
3 quartiers	01	33,33	00	00	01	33,33	01	33,33	03	09
4 quartiers	04	67	00	00	01	16,5	01	16,5	06	18
Total	23	70	02	06	03	09	05	15	33	100

S. aureus : staphylococcus aureus ; *St. uberis* : *Streptococcus uberis*; *E.Coli* : *Escherichia coli* ; cult. mixte : Présence de deux germes ou plus, Nb : nombre ; % : pourcentage.

Les résultats montrent que :

- 13 vaches ont un seul quartier infecté, soit 40 %.
- 11 vaches ont deux quartiers infectés, soit 33 % .
- 03 vaches ont trois quartiers infectés, soit 09 % .
- 06 vaches ont quatre quartiers infectés, soit 18 % .

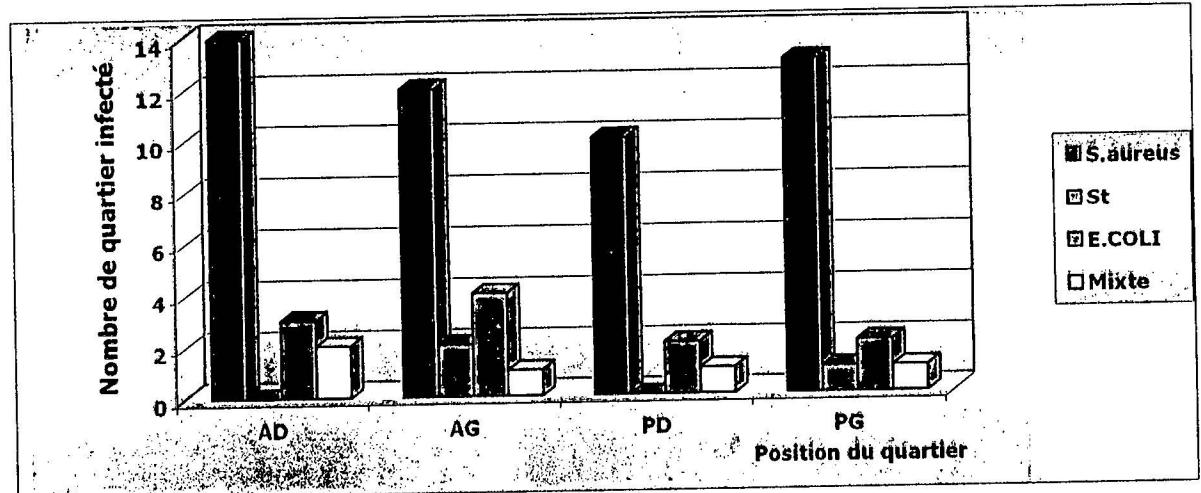


Figure 29 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés selon les germes isolés au cours du premier examen bactériologique.

Deuxième passage :

Les résultats sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau XXI : Répartition des quartiers en fonction de l'état d'infection et germes isolés lors du deuxième examen bactériologique.

	Statut infectieux des quartiers												Total au passage
	Non infecté		Infectés								Total infectés		
	Nb	%	Staph.		Strept.		E. Coli		Cult mixte		Nb	%	
Quartier AD	26	62	14	87,5	01	6,25	00	00	01	6,25	16	38	42
Quartier AG	28	67	12	86	01	07	01	07	00	00	14	33	42
Quartier PD	22	52	20	100	00	00	00	00	00	00	20	48	42
Quartier PG	28	67	13	93	00	00	01	07	00	00	14	33	42
Total	104	62	59	35,5	02	01	02	01	01	0,5	64	38	168

Staph. : *Staphylococcus aureus* ; Strept. : *Streptococcus uberis*; E.Coli : *Escherichia coli* ; cult. mixte : Présence de deux germes, Nb : nombre ; % : pourcentage.

Les résultats montrent que :

- 104 quartiers sont non infectés, soit 62 %, répartis comme suit :
 - 26 AD, soit 62 %.
 - 28 AG, soit 67 %.
 - 22 PD, soit 52 %.
 - 28 PG, soit 67 % .
- 64 quartiers sont infectés, soit 38 % dont :
 - 16 AD, soit 38 % .
 - 14 AG, soit 33 %.
 - 20 PD, soit 48 %.
 - 14 PG, soit 33 %.

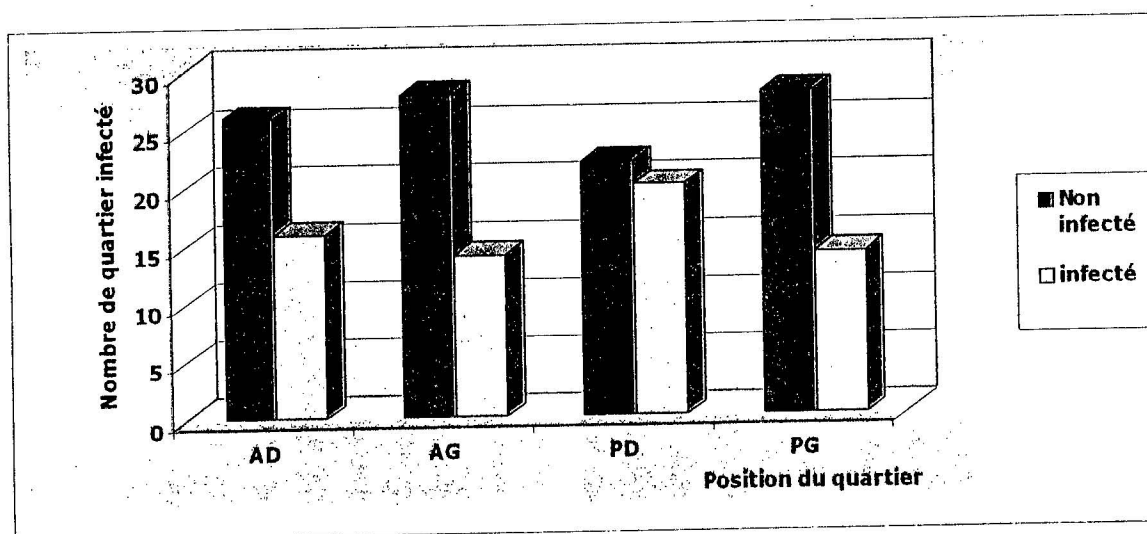


Figure 30 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés et non infectés au cours du deuxième examen bactériologique.

- La répartition en fonction du germe isolé montre que :
 - 59 quartiers sont infectés par *staphylococcus aureus*, soit 35,5 %.
 - 02 quartiers par *Escherichia coli*, soit 01 %.
 - 02 quartiers par *Streptococcus uberis*, soit 01 %.
 - 01 quartier par l'association de deux germes (*S. aureus* + *St. uberis*), soit 0,5 %.

Ces résultats traités par vache montrent que 10 vaches ne sont pas infectées contre 32 qui sont infectées, soit 76 % comme suit :

- 29 par *Staphylococcus aureus*, soit 91 %.
- 01 par *Escherichia coli*, soit 03 %.
- 02 par l'association de deux germes dans le même quartier ou trois germes dans le même pis (01 *S. aureus*+*E. coli*, 01 *St. Uberis* + *S. aureus*), soit 06 %.

La répartition des vaches en fonction du nombre de quartiers infectés et des germes isolés est rapportée dans le tableau ci dessous.

Tableau XXII : Répartition des vaches selon le nombre de quartiers infectés et germes isolés.

Nombre de quartiers infectés	<i>S. aureus</i>		<i>St. Uberis</i>		<i>E. Coli</i>		Cult mixte		Total	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
1 quartier	09	90	00	00	01	10	00	00	10	31
2 quartiers	14	93	00	00	00	00	01	7	15	47
3 quartiers	03	75	00	00	00	00	01	25	04	13
4 quartiers	03	100	00	00	00	00	00	00	03	09
Total	29	91	00	00	01	03	02	06	32	100

S. aureus : staphylococcus *aureus* ; *St. uberis* : *Streptococcus uberis*; *E.Coli* : *Escherichia coli* ; cult. mixte : Présence de deux germes ou plus, Nb : nombre ; % : pourcentage.

Les résultats montrent que :

- 10 vaches ont un seul quartier infecté, soit 31 %.
- 15 vaches ont deux quartiers infectés, soit 47 % .
- 04 vaches ont trois quartiers infectés, soit 13 % .
- 03 vaches ont quatre quartiers infectés, soit 09 % .

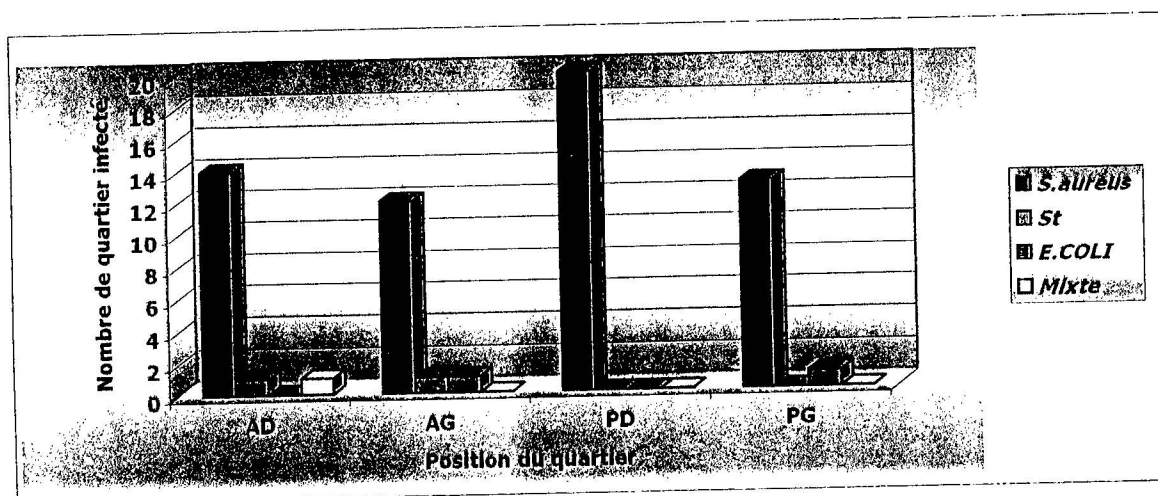


Figure 31 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés selon le germe isolé au cours du deuxième examen bactériologique.

Troisième passage :

Les résultats sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau XXIII : Répartition des quartiers en fonction de l'état d'infection et germes isolés lors du troisième examen bactériologique.

	Statut infectieux des quartiers												Total au passage
	Non infecté		Infectés										
			Staph.		Strept.		E. Coli		Cult mixte		Total infectés		
Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%		
Quartier AD	33	79	07	78	01	11	00	00	01	11	09	21	42
Quartier AG	30	71	08	67	02	16,5	00	00	02	16,5	12	29	42
Quartier PD	26	62	15	94	00	00	00	00	01	06	16	38	42
Quartier PG	33	79	08	89	01	11	00	00	00	00	09	21	42
Total	122	73	38	23	04	02	00	00	04	02	46	27	168

Staph. : *Staphylococcus aureus* ; Strept. : *Streptococcus uberis*; E.Coli : *Escherichia coli* ; cult. mixte : Présence de deux germes, Nb : nombre ; % : pourcentage.

Les résultats montrent que :

- 122 quartiers sont non infectés, soit 73 %, répartis comme suit :
 - 33 AD, soit 79 %.
 - 30 AG, soit 71 %.
 - 26 PD, soit 62 %.
 - 33 PG, soit 79 % .
- 46 quartiers sont infectés, soit 27 % dont :
 - 09 AD, soit 21 % .
 - 12 AG, soit 29 %.
 - 16 PD, soit 38 %.
 - 09 PG, soit 21 %.

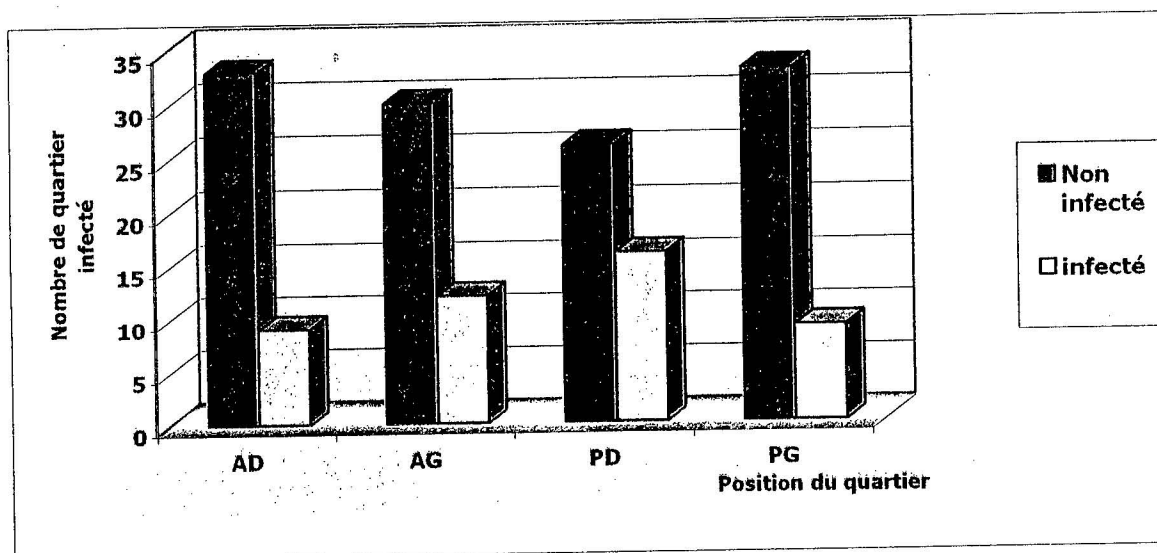


Figure 32 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés et non infectés au cours du troisième examen bactériologique.

- o La répartition en fonction du germe isolé montre que :
 - 38 quartiers sont infectés par *staphylococcus aureus*, soit 23 %.
 - 04 quartiers par *Streptococcus uberis*, soit 02 %.
 - 04 quartiers par l'association de deux germes (*S. aureus* + *St. uberis*), soit 02 %.

Ces résultats traités par vache montrent que 21 vaches ne sont pas infectées contre 21 qui sont infectées, soit 50 % comme suit :

- 15 par *Staphylococcus aureus*, soit 71 %.
- 01 par *Streptococcus uberis*, soit 05 %.
- 05 par l'association de deux germes dans le même quartier ou trois germes dans le même pis (*S. aureus* + *St. uberis*), soit 24 %.

La répartition des vaches en fonction du nombre de quartiers infectés et des germes isolés est rapportée dans le tableau ci dessous.

Tableau XXIV : Répartition des vaches selon le nombre de quartiers infectés et germes isolés.

Nombre de quartiers infectés	<i>S. aureus</i>		<i>St. Uberis</i>		<i>E. Coli</i>		Cult mixte		Total	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
1 quartier	05	83	01	17	00	00	00	00	06	29
2 quartiers	06	75	00	00	00	00	02	25	08	38
3 quartiers	02	50	00	00	00	00	02	50	04	19
4 quartiers	02	67	00	00	00	00	01	33	03	14
Total	15	71	01	05	00	00	05	24	21	100

S. aureus : staphylococcus *aureus* ; *St. uberis* : *Streptococcus uberis*, *E.Coli* : *Escherichia coli* ; cult. mixte : Présence de deux germes ou plus, Nb : nombre ; % : pourcentage.

Les résultats montrent que :

- o 06 vaches ont un seul quartier infecté, soit 29 %.
- o 08 vaches ont deux quartiers infectés, soit 38 % .
- o 04 vaches ont trois quartiers infectés, soit 19 % .
- o 03 vaches ont quatre quartiers infectés, soit 14 % .

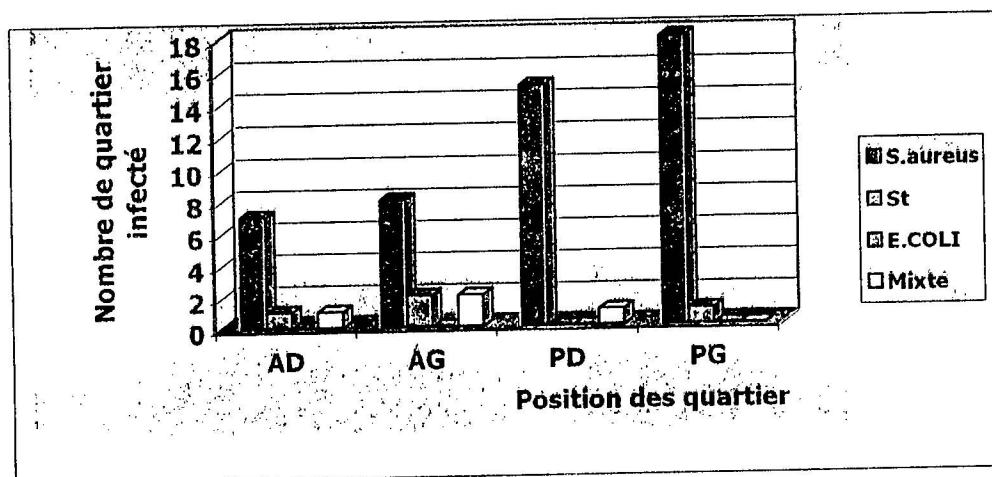


Figure 33 : Histogramme représentant la distribution des quartiers infectés selon les germes isolés au cours du troisième examen bactériologique.

La figure ci dessous montre la dynamique et l'évolution des quartiers infectés au cours de l'étude.

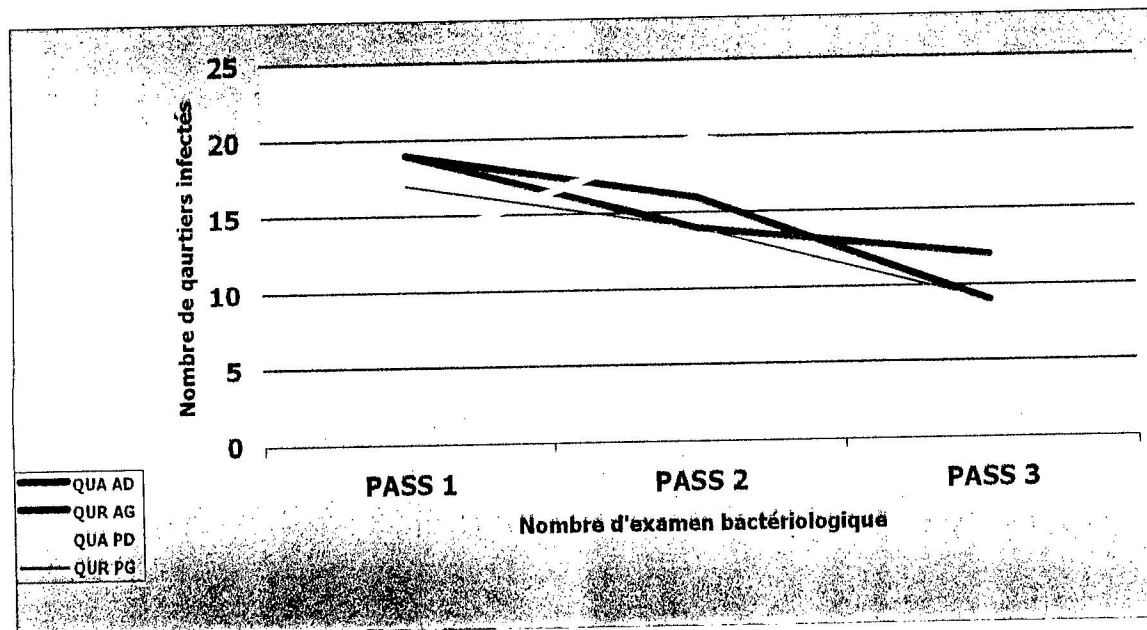


Figure 34. Dynamique et Evolution des quartiers infectés au cours de l'étude.

4- ENREGISTREMENT DES CAS CLINIQUES :

L'examen clinique a permis de diagnostiquer 04 cas de mammites cliniques, soit 9,52 %. L'examen bactériologique a permis d'isoler à partir des prélèvements de ces cas :

- *Staphylococcus aureus* dans deux (02) cas, soit 50%.
- *Escherichia coli* dans un (01) cas, soit 25 %.
- L'association de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* dans le dernier cas, soit 25 %.

5- LE COMPTAGE CELLULAIRE:

Concentration cellulaire individuelle (lait de mélange des 4 quartiers) : CCI

Les résultats de la numération cellulaire individuelle (vache), à partir des prélèvements de lait des 7 passages a montré que les taux varient de **87 600** à **7 852 600** cellules /ml, comme le montre le tableau ci dessous.

Tableau XXV: Répartition des valeurs du taux cellulaire individuel de vache au cours de l'étude.

CCI (x 10 ³) cellules /ml		< 300			> 300		Effectif au passage
		< 100	100 – 200	200 – 300	300 - 10 ³	> 10 ³	
1^{er} passage	Nb	00	02	15	20	05	42
	%	00	05	35,5	47,5	12	100
2^{ème} passage	Nb	00	11	11	17	03	42
	%	00	26	26	40,5	7,5	100
3^{ème} passage	Nb	02	11	10	15	04	42
	%	05	26	24	35,5	9,5	100
4^{ème} passage	Nb	01	16	08	12	05	42
	%	02	38	19	29	12	100
5^{ème} passage	Nb	00	12	15	11	04	42
	%	00	29	35,5	26	9,5	100
6^{ème} passage	Nb	00	08	10	15	06	39
	%	00	20,5	26	38,5	15	100
7^{ème} passage	Nb	01	05	09	15	07	37
	%	03	13,5	24	40,5	19	100
Total	Nb	04	65	78	105	34	286
	%	1,5	23	27	37	11,5	100

Nb: nombre de taux ; **%** :pourcentage .

La distribution des taux obtenus a révélé que :

- **51%** des valeurs sont inférieures à **300 000** cellules /ml et réparties ainsi :
 - **1,5 % (n = 4)** des valeurs en dessous de **100 000** cellules /ml.
 - **23 % (n = 65)** comprises entre **100 000** et **200 000** cellules /ml.
 - **27 % (n = 78)** entre **200 000** et **300 000** cellules /ml.
- **49 %** des valeurs sont supérieures à **300 000** cellules /ml et réparties ainsi :
 - **37 % (n = 105)** des valeurs sont comprises entre **300 000** et **10⁶** cellules /ml.
 - **11,5 % (n = 34)** des valeurs sont supérieures à **10⁶** cellules /ml.

Les taux cellulaires moyens varient de **183 914,28** à **2 484 133,33** cellules /ml et sont distribués comme suit :

- **36 %** des valeurs sont inférieures à **300 000** cellules /ml et réparties ainsi :
 - **14 % (n = 6)** des valeurs inférieures à **200 000** cellules /ml.
 - **21,5 % (n = 9)** des valeurs comprises entre **200 000** et **300 000** cellules /ml.
- **64 %** des valeurs sont supérieures à **300 000** cellules /ml et réparties ainsi :
 - **52,5 % (n = 22)** des valeurs comprises entre **300 000** et **10⁶** cellules /ml.
 - **12 % (n = 05)** des valeurs supérieures à **10⁶** cellules /ml.

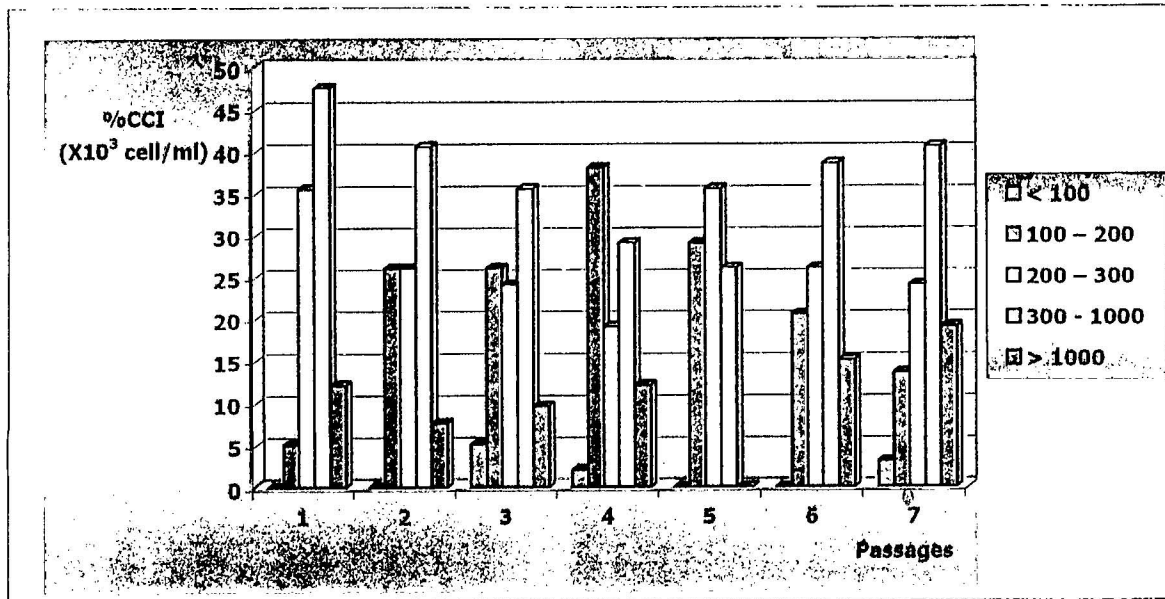


Figure 35 : Histogramme représentant la distribution des pourcentages des taux cellulaires individuels de vache au cours de l'étude.

Numérations cellulaires de troupeau (lait de mélange) : NCT

Les résultats de la numération cellulaire de mélange (troupeau), à partir des prélèvements de lait des 7 passages a montré que les taux varient de **683 443** à **1 102 191** cellules /ml avec une moyenne arithmétique de **818 010,28** cellules /ml (Cf. **tableau XXVI**).

Tableau XXVI : Répartition des valeurs du taux cellulaire des laits de mélange.

Passages	1	2	3	4	5	6	7	Moyenne (cellules /ml)
NCT (cellules /ml)	754 571	683 443	732 533	848 905	697 762	906 667	1 102 191	818 010,28

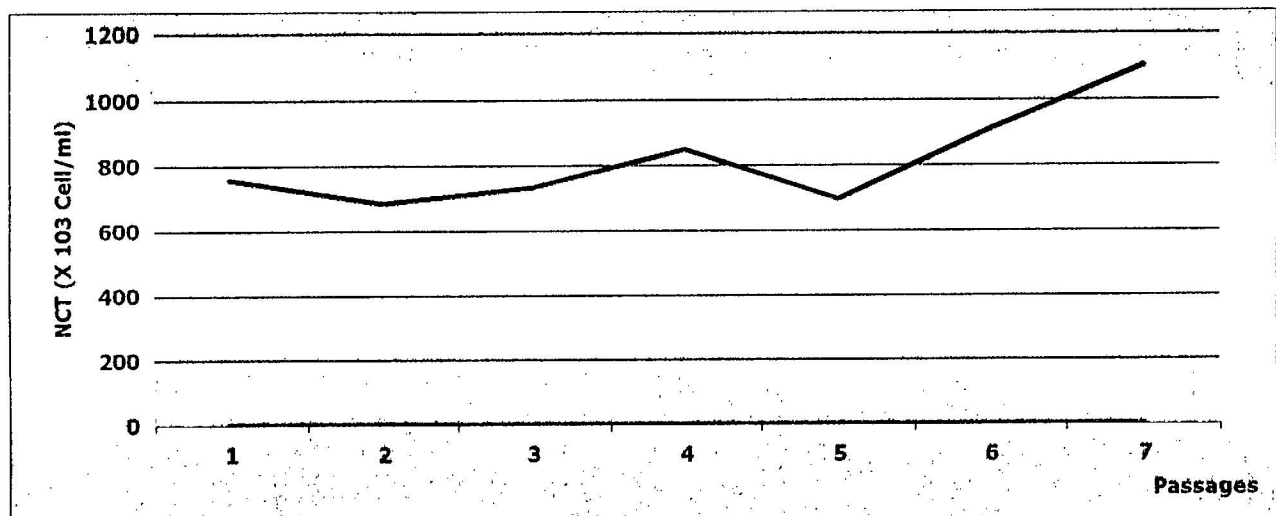


Figure 36. Evolution du taux cellulaire du lait de mélange au cours de l'étude.

II- ANALYSE STATISTIQUE :

Les résultats de l'examen bactériologique des trois passages a révélé la présence de pathogènes majeurs, en l'occurrence, *S. aureus*, *St. Uberis* et *E. coli*.

Les résultats de l'analyse, selon les critères retenus, sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau XXVII: Répartition des vaches selon leurs états d'infection au cours de l'étude.

Etat d'infection	Non infecté		Infectée brièvement avec signes cliniques				Infectée durablement par :							
			E.coli		Cult mixte		S. aureus signes cliniques				E.coli		Cult mixte	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	+		-		Nb	%	Nb	%
Vaches (n= 42)	07	17	01	50	01	50	02	06	28	85	02	06	01	03
Nombre total	07		02				33							
Pourcentage	17		05				78							

Nb : nombre, % : pourcentage, *S. aureus* : staphylococcus aureus ; *St. uberis* : *Streptococcus uberis*, *E.Coli* : *Escherichia coli* ; cult. mixte : Présence de deux germes ou plus, + : avec signe clinique, - sans signe clinique.

Ils montrent que :

- 07 vaches, soit 17 % sont « non infectée par un pathogène majeur ».
- 02 vaches, soit 5 % sont « infectée brièvement avec signes cliniques » par :
 - *Escherichia coli* : 01 vache, soit 50 %.
 - L'association de *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*: 01 vache, soit 50 %.
- 33 vaches, soit 78 % sont « infectée durablement avec ou sans signes cliniques » par :
 - *Staphylococcus aureus* : 30 vaches, soit 91 %.
 - *Escherichia.coli* : 02 vaches, soit 06 %.
 - L'association de *Staphylococcus aureus* et *streptococcus uberis* : 01 vache, soit 03 %.

Le schéma ci dessous résume la répartition des vaches selon l'état d'infection et selon le germe isolé.

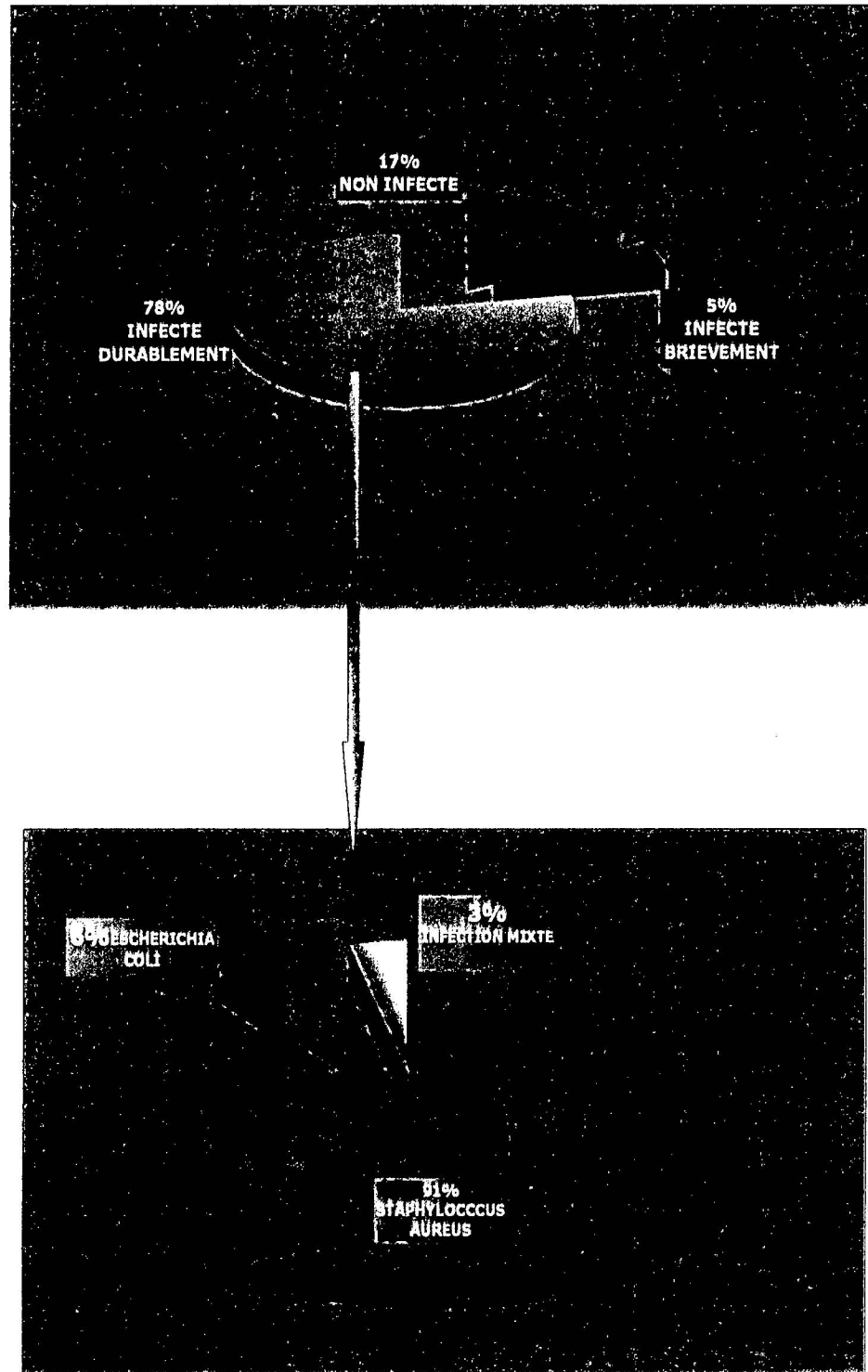


Figure 37. Répartition des vaches en fonction de l'état d'infection et selon les germes impliqués au cours de l'étude.

Traités par quartier, les résultats sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau XXVIII: Répartition des vaches selon le nombre des quartiers infectés durablement et des germes isolés.

Nombre de quartiers infectés	<i>S. aureus</i>		<i>St. Uberis</i>		<i>E. Coli</i>		Cult mixte		Total	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
1 quartier	17	85,5	00	00	02	10,5	00	00	19	58
2 quartiers	07	87,5	00	00	00	00	01	12,5	08	24
3 quartiers	03	100	00	00	00	00	00	00	03	09
4 quartiers	03	100	00	00	00	00	00	00	03	09
Total	30	91	00	00	02	06	01	03	33	100

S. aureus : staphylococcus *aureus* ; *St. uberis* : *Streptococcus uberis*; *E.Coli* : *Escherichia coli* ; cult. mixte : Présence de deux germes ou plus, Nb : nombre ; % : pourcentage.

Ils montrent que :

- o **56** quartiers sont infectés durablement, soit **33,33 %** ; répartis comme suit :
 - **19** vaches ont un seul quartier infecté, soit **58%**.
 - **08** vaches ont deux quartiers infectés, soit **24 %**.
 - **03** vaches ont trois quartiers infectés, soit **09 %**.
 - **03** vaches ont quatre quartiers infectés, soit **09%**.

La confrontation des résultats du comptage cellulaire et des examens bactériologiques sont rapportés selon l'état d'infection et les germes isolés dans les tableaux XXIX et XXX respectivement.

Tableau XXIX : Répartition des taux cellulaires moyens en fonction de l'état d'infection des vaches au cours de l'étude.

CCI (cellules /ml)	Statut infectieux des vaches	
	Non infectée	Infectée (durablement et brièvement)
Moyenne arithmétique	200 747 (n = 58)	672 927 (n = 228)
Moyenne logarithmique	12,16	12,92
Ecart type	0,31	0,90

Tableau XXX : Répartition des taux cellulaires moyens en fonction des germes isolés au cours de l'étude

CCI (cellules /ml)	Germes isolés			
	<i>S. aureus</i>	<i>St. Uberis</i>	<i>E. Coli</i>	Cult mixte
Moyenne arithmétique	627 191 (n = 66)	661 933 (n = 3)	863 750 (n = 4)	954 060 (n = 10)
Moyenne logarithmique	12,95	13,25	13,51	13,89
Ecart type	0,88	0,73	0,60	0,47

S. aureus : staphylococcus *aureus* ; *St. uberis* : *Streptococcus uberis*; *E.Coli* : *Escherichia coli*; cult. mixte : Présence de deux germes ou plus

Les résultats montrent que :

- Les taux cellulaires moyens pour les vaches :
 - non infectées sont faibles (**200 747** cellules / ml).
 - Pour les vaches infectées brièvement ou durablement dans un ou plusieurs quartiers par un ou plusieurs pathogènes majeurs, sont nettement plus élevés (**672 927** cellules/ ml) et répartis en fonction des germes isolés comme suit :
 - Les moins élevés, sont observés lors d'infection par *staphylococcus aureus* (**627 191** cellules / ml),
 - Suivis, de ceux observés lors d'infection par *streptococcus uberis* et *Escherichia coli* (**661 933 et 863 750** cellules / ml, respectivement).
 - Les plus élevés (**954 060** cellules / ml) sont observés lors d'infection par plusieurs germes.
 - Infectées par un pathogène majeur sont multipliés par un coefficient de **3** par rapport à celles non-infectées. Cette différence des moyennes est significative au seuil de **5%**.
- Les taux cellulaires individuels bruts (sans corrections des effets tels que le stade de lactation, le rang de lactation dont l'influence reste non significative dans notre étude) reflètent correctement l'état d'infection ou de non-infection des vaches par un pathogène majeur.

Les possibilités d'utiliser les résultats du comptage cellulaire individuel (CCI) pour le diagnostic de l'état d'infection durable des vaches est réalisé de deux manières, c'est à dire, à partir :

- d'un seul taux **(1)**.
- d'une série de taux **(2)**.

1. Diagnostic de l'état d'infection durable à partir d'un seul taux cellulaire :

La répartition des taux cellulaires en fonction de l'état d'infection est rapporté dans le tableau ci dessous.

Tableau XXXI: Répartition des taux cellulaires pour les différents états d'infection

CCI (x 10 ³ cellules /ml)	Non infectée (1)	Statut infectieux des vaches					Total des CCI
		Infectée par un pathogène majeur					
		Brièvement (2)	(1 + 2)	Durablement			
				Signes cliniques			
Avec (3)	Sans (4)			(3 + 4)			
0 - 100	01	00	01	00	03	03	04
100 - 300	57	00	57	00	86	86	40
300 - 500	00	00	00	00	40	40	40
500 - 800	00	00	00	00	14	14	14
> 800	00	02	02	02	81	83	85
Total	58	02	60	02	224	226	286

Cette répartition montre que chez les vaches :

- Non infectés durablement par un pathogène majeur (vaches non infectées + vaches brièvement infectées avec signes cliniques), plus de 9 taux cellulaire sur 10 (58 sur 60) sont inférieurs à 300 000 cellules avec une forte proportion de taux (34 sur 60) compris entre 200 000 et 300 000 cellules /ml.
- Infectées durablement par un pathogène majeur(avec ou sans signes cliniques), les taux sont autour de :
 - 4 fois sur 10 (86 sur 226) inférieurs à 300 000 cellules /ml,

- 2 fois sur 10 (40 sur 226) compris entre 300 000 et 800 000 cellules /ml,
- 4 fois sur 10 (83 sur 226) supérieurs 800 000 cellules /ml.

Il en ressort que les vaches :

- Non infectées durablement se caractérisent par des taux cellulaires bas qui ne dépassent pas le seuil de 300 000 cellules /ml et très exceptionnellement celui de 800 000 cellules /ml.
- Infectées durablement par un pathogène majeur se caractérisent par des taux cellulaires très variables avec des proportions importantes de numérations inférieures à 300 000 cellules /ml, d'une part et supérieures à 800 000 cellules /ml, d'autre part.

Ce constat nous amène à envisager le choix de deux seuils, celui de 300 000 et 800 000 cellules /ml, qui détermine la distribution rapportée par le tableau ci dessous.

Tableau XXXII : Répartition des taux cellulaires des vaches par rapport aux seuils déterminés.

CCI (x 10 ³ cellules /ml)	Statut infectieux des vaches				Total des CCI	
	Non infectée durablement		Infectée durablement		Nb	%
	Nb	%	Nb	%		
< 300	58	97	89	35	147	52
> 300 et < 800	00	00	54	24	54	19
> 800	02	03	83	41	85	29
Total	60	100	226	100	286	100

Les résultats montrent que le seuil de :

- 300 000 cellules /ml permet de repérer 97% des vaches effectivement non infectées par un pathogène majeur et 65 % (24 + 41) des vaches comme effectivement infectées.
- 800 000 cellules /ml, les proportions correspondantes sont de 97% et 41% respectivement.

Précision du diagnostic :

Si le niveau d'infection des vaches n'est pas connu à priori, les résultats font apparaître qu'au seuil de:

- 300 000 cellules /ml, on classe **61 %** des vaches (**89/147**) comme fausses négatives : vaches dont le taux cellulaire est inférieur à 300 000 cellules /ml et qui sont infectées durablement par un pathogène majeur.
- 800 000 cellules /ml, on classe **2 %** des vaches (2/85) comme fausses positives : vaches dont le taux cellulaire est supérieur à 800 000 cellules /ml et qui sont non infectées durablement par un pathogène majeur et **donc** par défaut seulement **41% des vaches** comme infectées.

Ce qui revient à dire que :

- **La sensibilité** de ce diagnostic ou **probabilité** à détecter les vaches réellement infectées (**positives**) est de 0,97.
- **La spécificité** de ce diagnostic ou **probabilité** à détecter les vaches réellement non infectées (**négatives**) est de 0,39.

Le risque d'erreur pour le diagnostic de l'infection, à partir d'un seul comptage, est donc important. Cette difficulté résulte de la grande variabilité des taux cellulaires des vaches infectées, bien que souvent élevés, reste néanmoins plus d'**une fois sur 4** inférieurs à **300 000** cellules /ml et peuvent être confondus avec les vaches non infectées.

2. Diagnostic de l'état d'infection durable à partir d'une série de taux cellulaires :

Pour améliorer la précision du diagnostic avec les mêmes seuils déterminés, nous avons rassemblé en série les taux cellulaires. Leur répartition en fonction de l'état d'infection est rapportée dans le tableau ci dessous.

Tableau XXXIII : Répartition des séries de taux cellulaires individuels en fonction de l'état d'infection des vaches.

Série de CCI (x 10 ³ cellules /ml)	Non infectée (1)	Statut infectieux des vaches					Vaches
		Infectée par un pathogène majeur					
		Brièvement (2)	(1 + 2)	Durablement			
				Signes cliniques			
Avec (3)	Sans (4)			(3 + 4)			
Toujours < 300 (catégorie 1)	07	00	07	00	02	02	09
1 fois > 300 (catégorie 2)	00	02	02	00	00	00	02
Au - 2 fois > 300 et toujours < à 800 (catégorie 3)	00	00	00	00	07	07	07
Au - 2 fois > 300 dont au - 1 fois > 800 (catégorie 4)	00	00	00	02	22	24	24
Total	07	02	09	02	31	33	42

Les résultats montrent que les vaches :

- Non infectées durablement par un pathogène majeur (catégorie 1 : 7 sur 7) ont des séries de taux cellulaires inférieures à 300000 et le restent toujours (Cf. figure 38).
- Infectées brièvement avec signes cliniques (2 sur 33) ont des séries de taux variables avec plus de 9 fois sur 10 et se trouve dans la catégorie 1 (Cf. figure 39).
- Infectées durablement par un pathogène majeur, avec ou sans signes cliniques, se distinguent nettement des précédentes par des séries de taux qui sont :
 - Plus de 2 fois sur 3 (24 sur 33) se trouvent dans la catégorie 4 (Cf. figure 40),
 - moins d'une fois sur 10 (2 sur 33) mais se trouvent dans la catégorie 1.

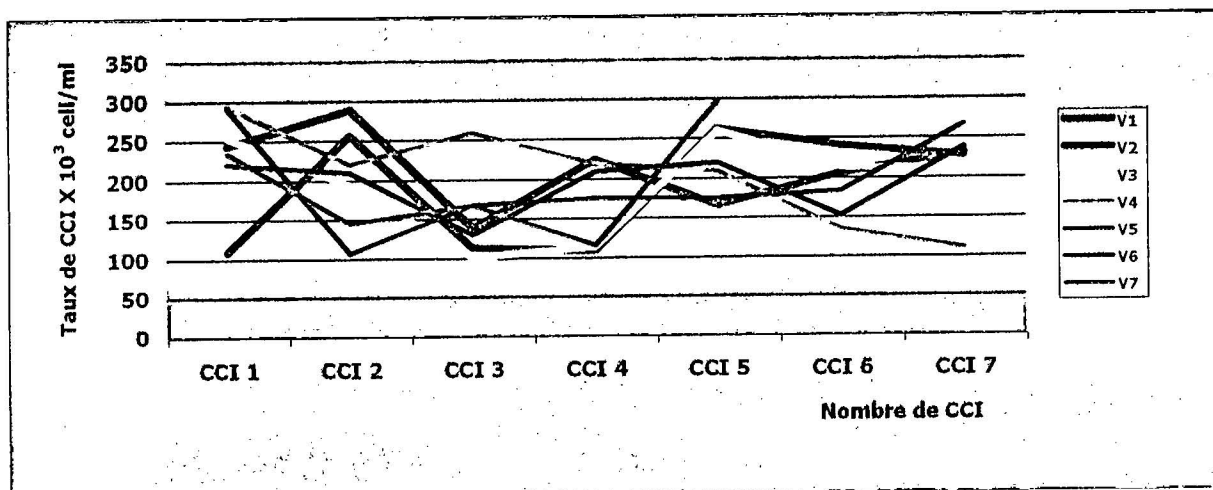


Figure 38 : Evolution des taux cellulaires individuels des vaches non infectés (catégorie 1).

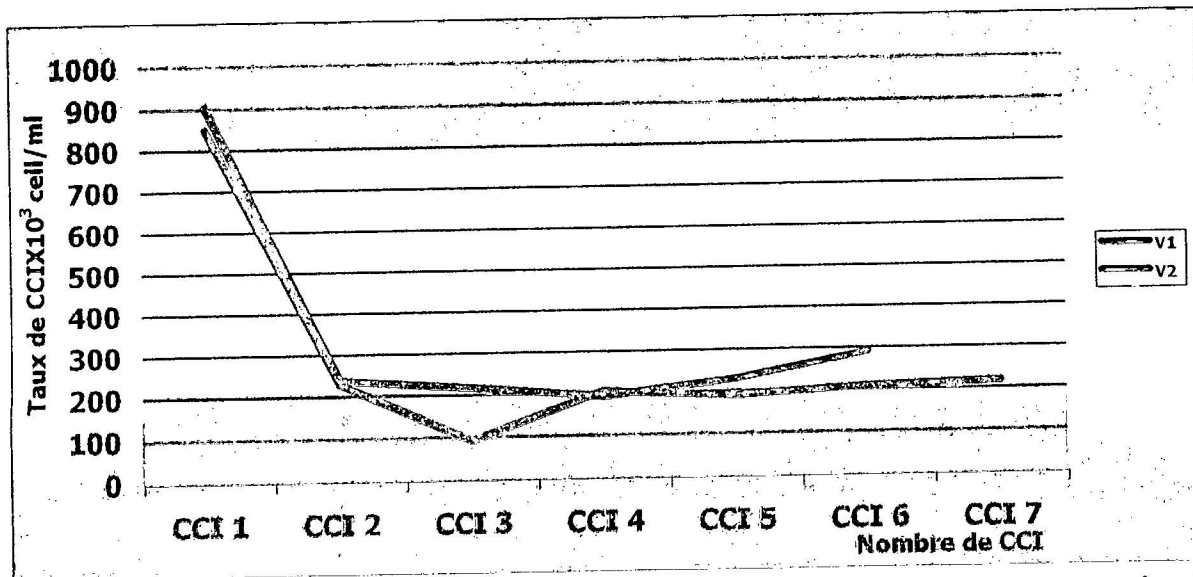


Figure 39 : Evolution des taux cellulaires individuels des vaches infectés brièvement (catégorie 2).

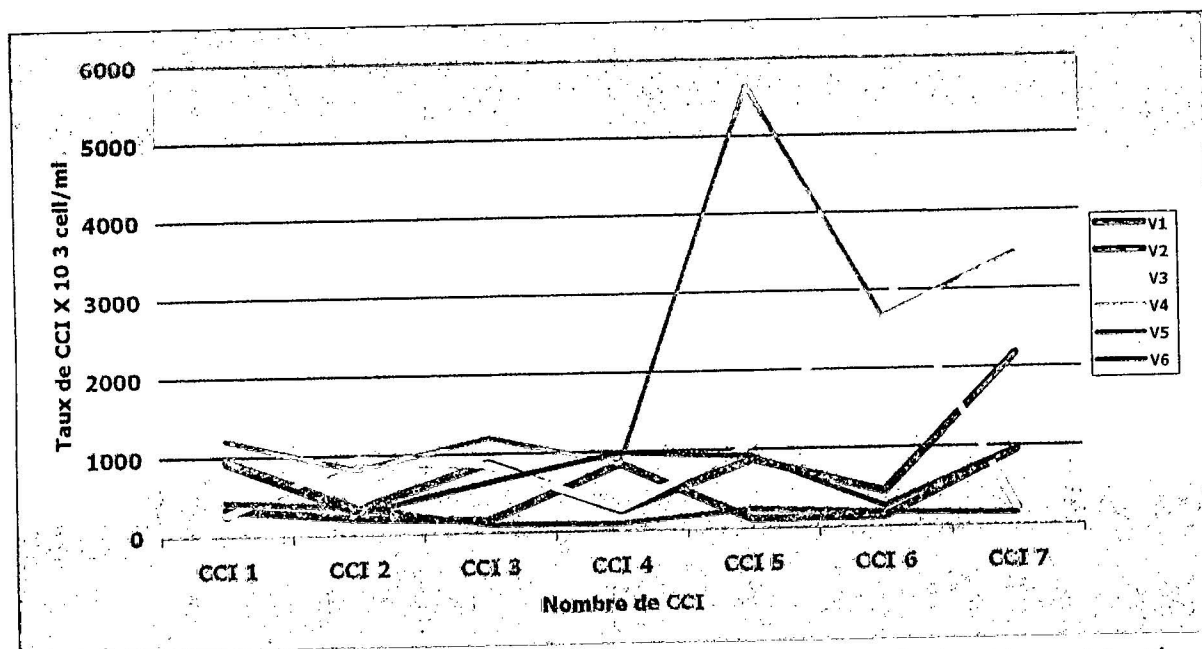


Figure 40: Evolution des taux cellulaires individuels des vaches infectés durablement (catégorie 4).

Ces résultats nous conduisent à envisager les mêmes règles de décisions, que celles adoptées par Serieys (1985 a), qui permettent une meilleure ségrégation des vaches non infectées de celles infectées durablement en lot de vaches ayant des taux cellulaires :

- Toujours inférieurs à 300 000 cellules /ml (catégorie 1).
- Avec 1 seul supérieur à 300 000 cellules /ml, quel que soit le niveau, où plusieurs compris entre 300 000 et 800 000 cellules /ml (catégorie 2 + 3).
- Avec au moins 2 supérieurs à 300 000 cellules /ml dont au moins 1 supérieur à 800 000 cellules /ml (catégorie 4).

La répartition des vaches par rapport à ces règles de décision est rapportée dans le tableau ci dessous.

Tableau XXXIV: Répartition des vaches par rapport aux règles de décision de **Serieys** en fonction de leur état d'infection.

Série de CCI (x 10 ³ cellules /ml)	Statut infectieux des vaches				Total des CCI	
	Non infectée durablement		Infectée durablement		Nb	%
	Nb	%	Nb	%		
Toujours < 300	07	78	02	06	09	21,5
1 fois > 300 et 2 fois au – compris entre 300 - 800	02	22	07	21	09	21,5
Au – 2 fois > 300 dont 1 fois > 800	00	00	24	73	24	57
Total	09	100	33	100	42	100

Précision du diagnostic :

Tenant compte des règles de décision, cette méthode de diagnostic classe :

- **73 %** des vaches comme infectées durablement, celles ayant au moins 2 taux supérieurs à 300 000 cellules /ml dont 1 fois au moins supérieur à 800 000 cellules /ml.
- **78 %** des vaches non infectées durablement, celles ayant des taux toujours inférieurs à 300 000 cellules /ml.
- 21 % des vaches infectées durablement et 22 % de celles non infectées sont considérées douteuses et aucune discrimination précise n'est possible. Le diagnostic dépend du nombre de cas cliniques.

Ce qui revient à dire que :

- **La sensibilité** de ce diagnostic ou **probabilité** à détecter les vaches réellement infectées (**positives**) est de 1,0.
- **La spécificité** de ce diagnostic ou **probabilité** à détecter les vaches réellement non infecté (**néglatives**) est de 0,77.

RESULTATS DE L'OBJECTIF III :

Les renseignements relatifs aux troupeaux de notre étude sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau XXXV : Renseignements relatifs aux troupeaux de l'étude.

Troupeaux	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Effectif	48	54	73	57	34	39	62	36	48	32	41	46	57	50	28	68	48	38	29	78	55	46
% multipares	78	81	69	89	85	75	96	67	77	62	54	62	86	63	58	53	67	88	53	68	96	85
% primipares	22	19	31	11	15	25	04	33	23	38	46	38	14	37	42	47	33	12	47	32	04	15

L'analyse de ces données montre que :

- L'effectif moyen de vaches par troupeau est de 48 avec des extrêmes de 28 à 78.
- Le taux moyen des primipares par troupeau est de 27 % avec des extrêmes de 04 à 47 %.
- Le taux moyen des multipares par troupeau est de 73 % avec des extrêmes de 53 à 96 %.

NUMERATIONS CELLULAIRES DE TANK (lait de mélange de troupeau) : NCT

Les résultats de la numération cellulaire de tank (troupeau), à partir des prélèvements de lait mensuels a montré que les taux varient de **276 860** à **1705640** cellules /ml, comme le montre le tableau ci dessous.

Tableau XXXVI : Numérations cellulaires mensuelles de Tank.

Troupeaux	NCT mensuels (cellules /ml)					Moyenne
	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	
T 1	705600	601400	743400	682000	652100	675900
T 2	1320000	920000	1024000	742600	823000	1000000
T 3	550400	861000	1297000	707200	656000	818300
T 4	844400	776000	798000	1247000	1310000	955000
T 5	416800	823400	376200	464000	562000	538400
T 6	595600	446200	736200	441000	567200	557400
T 7	1683200	1694000	1713000	1675000	1763000	1705640
T 8	230200	350400	358000	194400	251300	276860
T 9	621000	1904000	814800	874000	792000	1000000
T 10	426800	438400	349800	349800	445230	400000
T 11	803800	738800	427000	642300	1159000	740000
T 12	916800	1259000	439400	439400	347000	680000
T 13	1094000	812400	1171000	1171000	1082000	1070000
T 14	740000	616800	754000	524800	909400	700000
T 15	313800	482800	397200	450000	352000	400000
T 16	426800	528000	556200	637000	654300	560000
T 17	331600	457000	582000	595000	517400	490000
T 18	732200	785000	859400	939400	834000	800000
T 19	197800	254000	386200	295900	266800	280000
T 20	550800	574000	584000	621000	425800	550000
T 21	1272000	968700	968400	1120000	1276000	1000000
T 22	617400	853000	1093000	905400	997400	850000
NCT moyenne des troupeaux						739 314,81

La NCT moyenne des troupeaux est de 739 314,81 cellules /ml.

La distribution en fonction des NCT moyennes montre que :

- 03 troupeaux, soit 14 % ont une NCT moyenne de moins de 400 000 cellules /ml (catégorie 1).
- 10 troupeaux, soit 45% ont une NCT moyenne comprise entre 400 000 et 800 000 cellules /ml (catégorie 2).
- 09 troupeaux, soit 41% ont une NCT moyenne de plus de 800 000 cellules /ml (catégorie 3).

Cette répartition est illustrée dans la figure ci dessous.

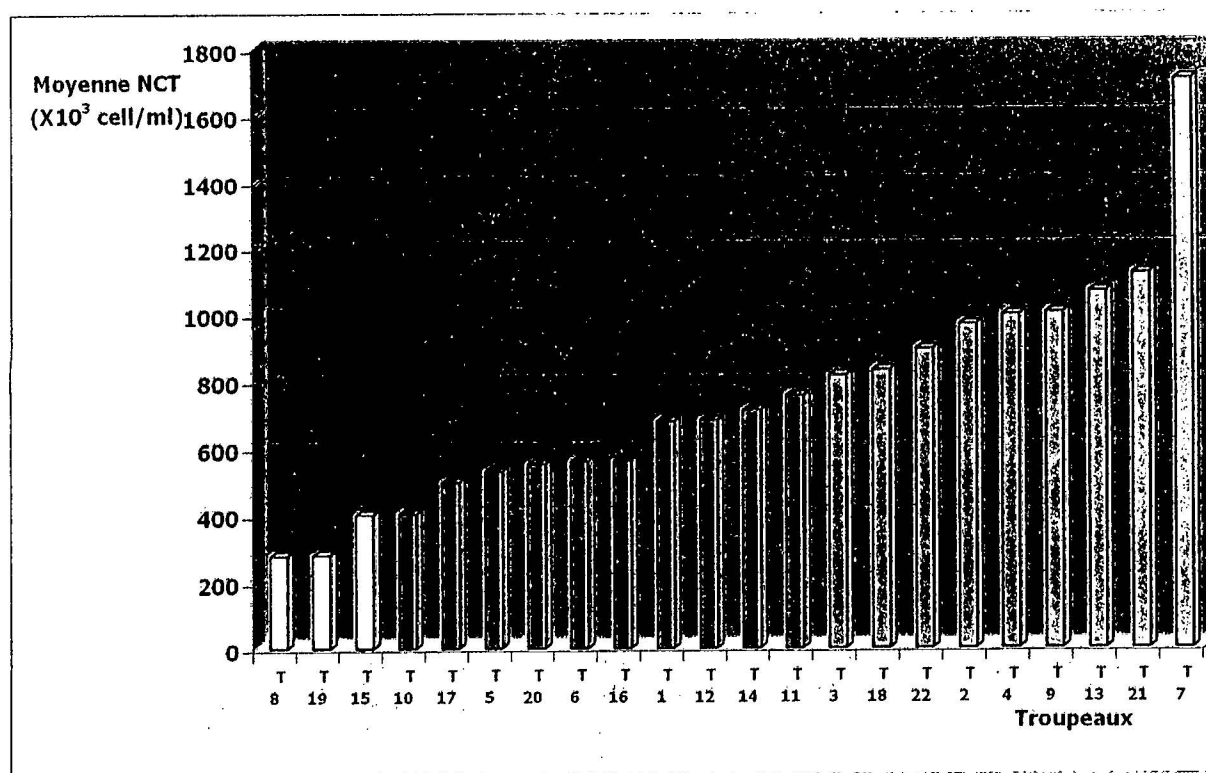
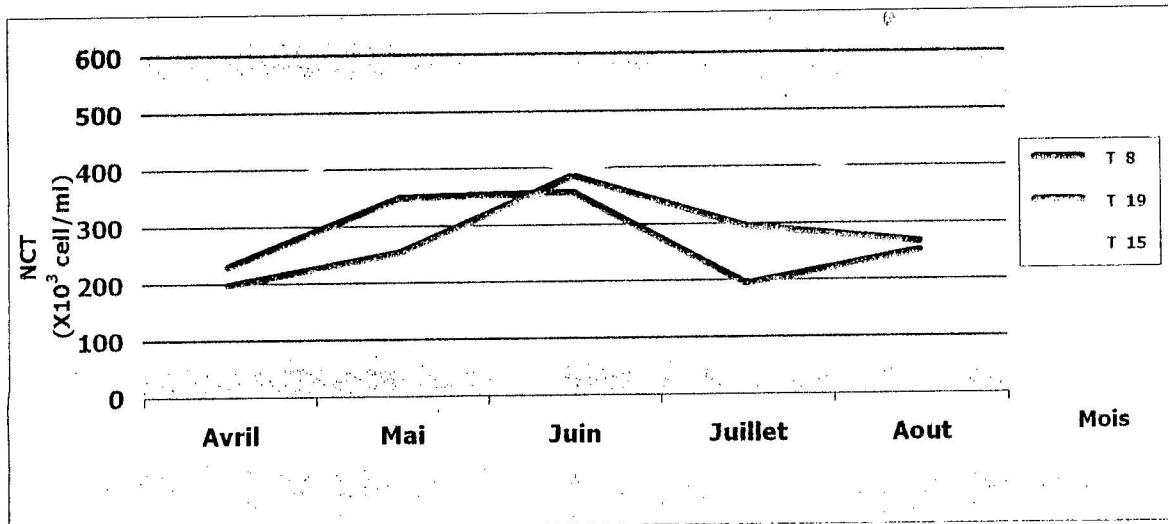
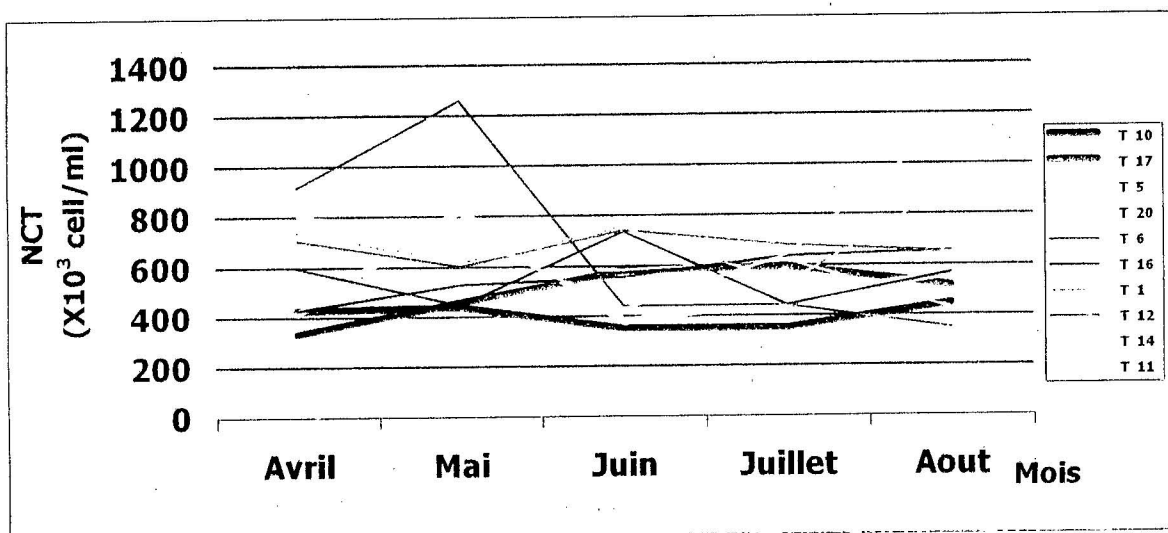


Figure 41 : Distribution des troupeaux en fonction des NCT moyennes.

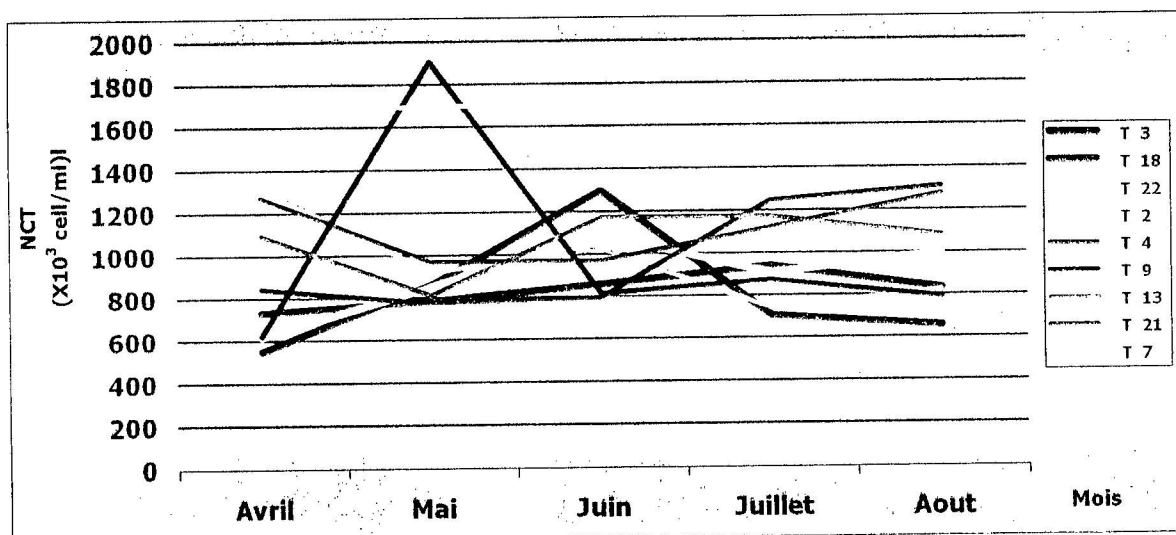
Cette distribution définissant ainsi trois catégories (1, 2 et 3) de troupeaux dont l'évolution des NCT est illustrée par la figure 42.



a : Troupeaux de la catégorie 1



b : Troupeaux de la catégorie 2.



c : Troupeaux de la catégorie 3.

Figure 42: Evolution NCT des troupeaux des trois catégories durant la période de l'étude.

ANALYSE BACTERIOLOGIQUE :

Les résultats de l'analyse bactériologique des laits de troupeaux sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau XXXVII : Résultats de l'analyse bactériologique.

Troupeaux	Examen bactériologique								
	1 ^{er}			2 ^{ème}			3 ^{ème}		
	Staph	Strep	E. coli	Staph	Strep	E. coli	Staph	Strep	E. coli
T1	positif	positif	négatif	positif	positif	négatif	positif	positif	négatif
T2	positif	négatif	négatif	positif	négatif	positif	positif	négatif	négatif
T3	positif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif
T4	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif	positif
T5	positif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif	négatif	négatif	positif
T6	positif	négatif	négatif	positif	négatif	positif	négatif	négatif	positif
T7	positif	positif	négatif	positif	négatif	positif	négatif	positif	négatif
T8	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	positif	négatif	positif	positif
T9	positif	positif	négatif	positif	positif	négatif	positif	négatif	positif
T10	positif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif
T11	négatif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif
T12	positif	positif	négatif	positif	positif	négatif	positif	positif	négatif
T13	positif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif	positif	négatif	positif
T14	positif	positif	négatif	positif	positif	négatif	négatif	positif	positif
T15	positif	négatif	négatif	positif	négatif	positif	positif	négatif	positif
T16	positif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif	positif	négatif	positif
T17	positif	positif	négatif	positif	positif	négatif	positif	positif	négatif
T18	positif	négatif	négatif	positif	négatif	positif	positif	négatif	négatif
T19	positif	négatif	négatif	positif	négatif	positif	positif	négatif	positif
T20	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	positif	négatif	négatif	négatif
T21	positif	positif	négatif	négatif	positif	positif	positif	positif	négatif
T22	positif	négatif	négatif	positif	négatif	positif	positif	négatif	négatif

Staph. : staphylocoques aureus ; **Strep.** : streptocoques hémolytiques ; **E. coli** : Echerchia coli ; positif : culture positive ; négatif : culture négative.

Les résultats de la figure ci dessous montrent que sur les 66 prélèvements, les cultures sont :

- o positives dans 61 cas, soit 92,5 %,
- o négatives dans 5 cas, soit 07,5%.

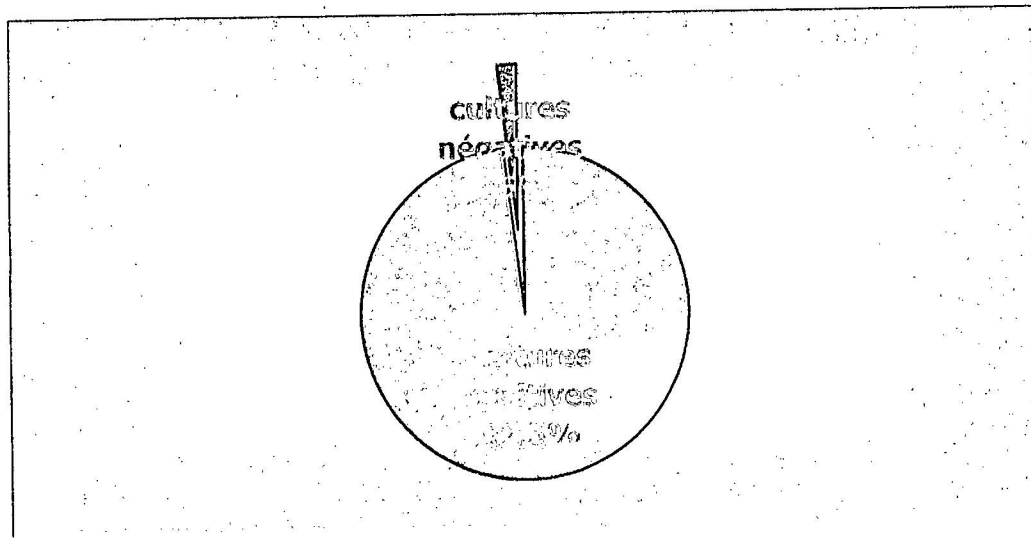


Figure 43 : Répartition des résultats de l'examen bactériologique.

A partir des cultures positives, nous avons isolé :

- ❖ *Staphylocoques aureus* dans 51 cas, soit **77,27 %**,
- ❖ *Escherichia coli* dans 21 cas, soit **31,83 %**,
- ❖ Les streptocoques hémolytiques dans 20 cas, soit **30,33%**.

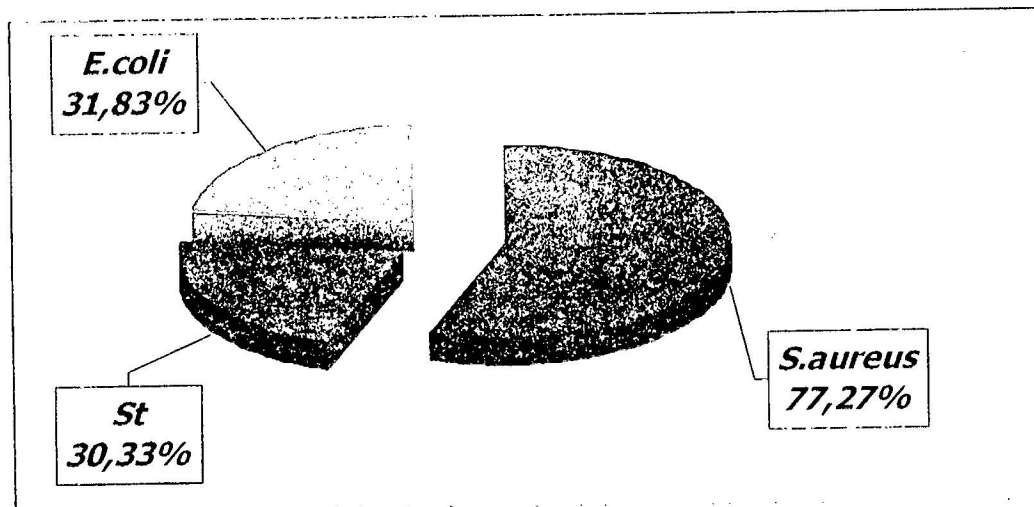


Figure 44 : Répartition des germes isolés.

CALCUL DES PERTES DUES AUX NCT ELEVEES (mammites subcliniques) :

Pertes quantitatives :

Les résultats des pertes en lait calculés selon le modèle normatif précité (chapitre matériels et méthodes) sont rapportés dans le tableau ci dessous.

Tableau XXXVIII : Valeurs obtenues pour la perte en lait par troupeau.

Troupeaux	Pertes mensuelles par troupeau en lait (%)					Moyenne pertes (%)
	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	
T 1	10,11	8,02	10,86	9,64	9,04	9,53
T 2	22,4	14,4	16,48	10,85	12,46	15,31
T 3	7	13,22	21,94	10,14	9,12	12,28
T 4	12,88	11,52	11,96	20,94	22,2	15,90
T 5	4,33	12,46	3,52	5,28	7,24	6,56
T 6	7,91	4,92	10,72	4,82	7,34	7,14
T 7	29,66	29,88	30,26	29,5	31,26	30,11
T 8	0,60	3	3,16	0	1,02	1,53
T 9	8,42	34,08	12,29	13,48	11,84	16,02
T 10	4,53	4,76	2,99	2,99	4,90	4,04
T 11	12,07	10,77	4,54	8,84	19,18	11,08
T 12	14,33	21,18	4,78	4,78	2,94	9,60
T 13	17,88	12,24	19,42	19,42	17,64	17,32
T 14	10,8	8,33	11,08	6,49	14,18	10,18
T 15	2,27	5,65	3,94	5	3,04	3,98
T 16	4,53	6,56	7,12	8,74	9,08	7,20
T 17	2,63	5,14	7,64	7,9	6,34	5,93
T 18	10,64	11,7	13,18	14,78	12,68	12,6
T 19	0	1,08	3,72	1,91	1,33	1,60
T 20	7,01	7,48	7,68	8,42	4,51	7,02
T 21	21,44	15,37	15,36	18,4	21,52	18,42
T 22	8,34	13,06	17,86	14,10	15,94	13,86
Moyenne des pertes						10,26

Les résultats montrent que les pertes moyennes par troupeau varient de 1,53 % à 30,11 % avec une moyenne des pertes des troupeaux de 10,26 %.

La relation qui existe entre les pertes mensuelles et les NCT montre une nette concordance entre l'évolution des pertes avec l'augmentation de la concentration cellulaires et est illustrée dans la figure ci dessous.

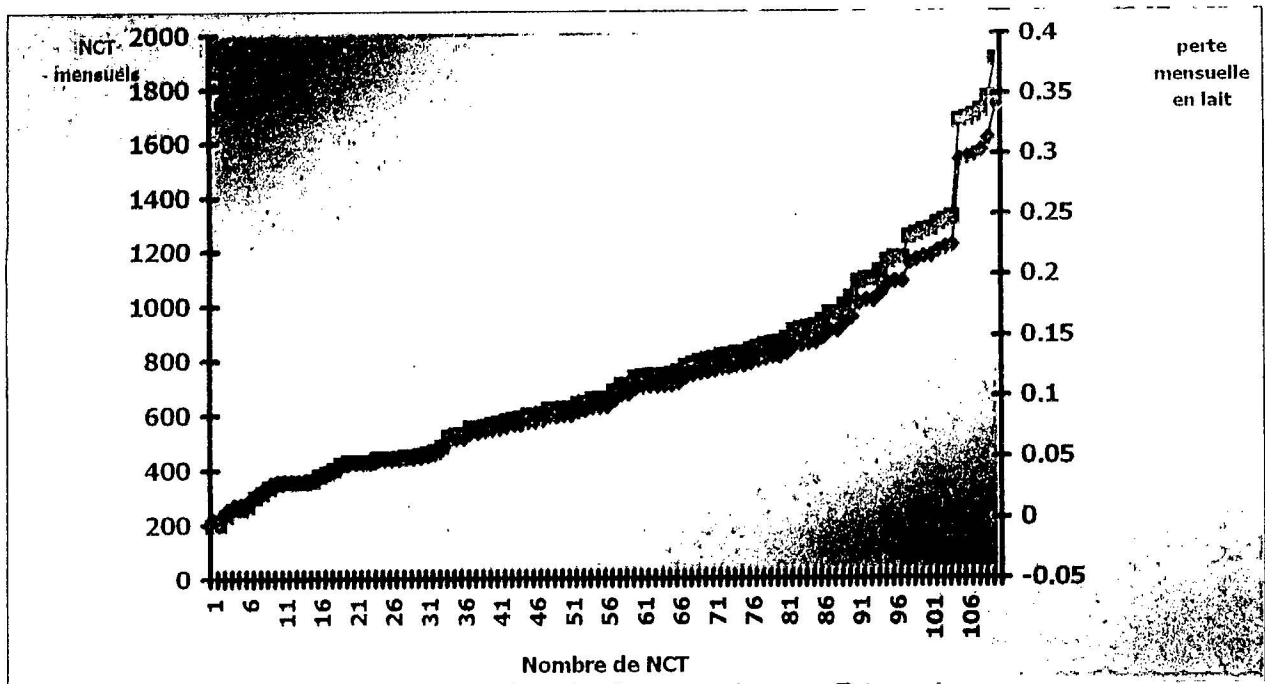


Figure 45: Evolution des pertes en lait en fonction des NCT mensuels.

Pertes qualitatives :

□ **La matière protéique :**

Les résultats d'estimation de la matière protéique par l'équation de régression linéaire sont rapportés dans le tableau ci dessous

Tableau XXXIX : Valeurs du rapport C/MAT(en %) estimées en fonction des NCT.

Troupeaux	Rapport C/MAT mensuels (%)					Moyenne des rapports C/MAT (%)
	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	
T 1	61,73	62,06	61,62	61,80	61,89	61,82
T 2	60,44	61,18	60,96	61,62	61,41	61,12
T 3	62,24	61,32	60,47	61,72	61,88	61,53
T 4	61,36	61,53	61,47	60,56	60,45	61,07
T 5	62,81	61,41	63,02	62,59	62,20	62,41
T 6	62,08	62,67	61,64	62,70	62,18	62,25
T 7	59,94	59,92	59,90	59,95	59,84	59,91
T 8	64,04	63,17	63,13	64,38	63,86	63,71
T 9	61,99	59,68	61,43	61,29	61,49	61,18
T 10	62,76	62,71	63,17	63,17	62,68	62,90
T 11	61,46	61,63	62,76	61,92	60,71	61,70
T 12	61,19	60,54	62,70	62,70	63,19	62,06
T 13	60,82	61,44	60,68	60,68	60,85	60,90
T 14	61,63	62,01	61,59	62,34	61,21	61,75
T 15	63,40	62,51	62,91	62,65	63,16	62,93
T 16	62,76	62,33	62,22	61,94	61,88	62,23
T 17	63,28	62,62	62,13	62,08	62,37	62,50
T 18	61,65	61,51	61,32	61,14	61,38	61,40
T 19	64,35	63,83	62,97	63,52	63,73	63,68
T 20	62,24	62,15	62,12	61,99	62,77	62,25
T 21	60,51	61,08	61,08	60,78	60,51	60,79
T 22	62,00	61,34	60,83	61,21	61,02	61,28
Moyenne des rapports mensuels						61,88

Les résultats montrent que la moyenne des rapports C/MAT mensuels est de 61,88 % avec des extrêmes de 59,91 % à 63,71 %.

La perte moyenne en matière protéique, représentée par la différence entre la valeur la plus élevée du rapport C/MAT et la valeur moyenne est de 1,83 %.

L'analyse après conversion en logarithme népérien des NCT mensuels en relation avec les rapports C/MAT mensuels montre une évolution inversement proportionnelle de ce rapport avec l'augmentation des NCT comme illustré dans la figure ci dessous.

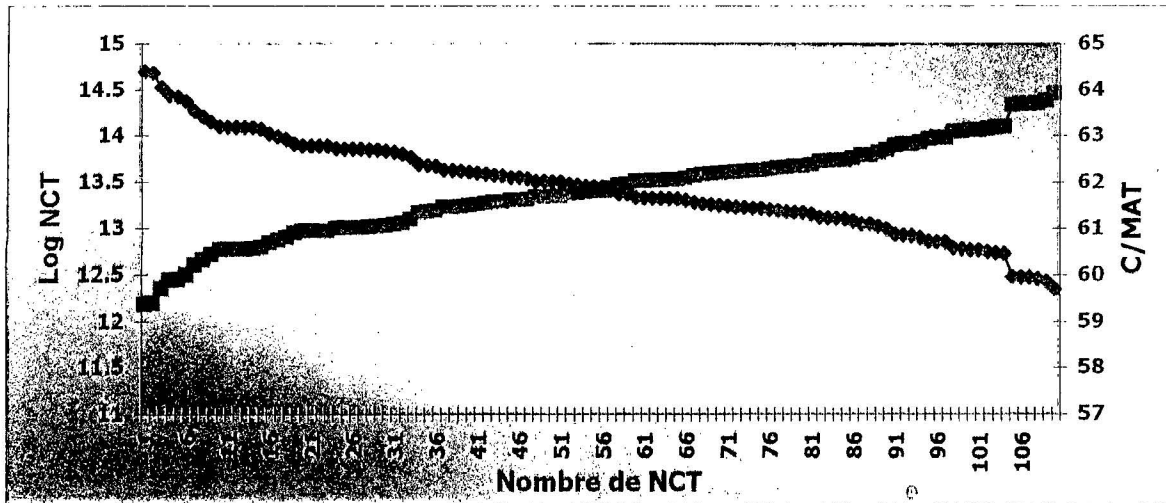


Figure 46: Evolution du rapport C/MAT en fonction des NCT mensuels.

□ **La matière grasse :**

Les résultats des pertes en matière grasse du lait produit par rapport au lait standard (38 g/l) et par troupeau sont rapportés dans le tableau ci dessous

Tableau XXXX : Pertes en matière grasse (g/l).

Troupeaux	Pertes en matière grasse (g/l)					Moyenne des pertes (g/l)
	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	
T 1	0,70	0,60	0,74	0,68	0,65	0,67
T 2	1,32	0,92	1,02	0,74	0,82	0,96
T 3	0,55	0,86	1,29	0,70	0,65	0,81
T 4	0,84	0,77	0,79	1,24	1,31	0,98
T 5	0,41	0,82	0,37	0,46	0,56	0,58
T 6	0,59	0,44	0,73	0,44	0,56	0,58
T 7	1,68	1,69	1,71	1,67	1,76	1,70
T 8	0,23	0,35	0,35	0,19	0,25	0,27
T 9	0,62	1,90	0,81	0,87	0,79	1,00
T 10	0,42	0,43	0,34	0,34	0,44	0,40
T 11	0,80	0,73	0,42	0,64	1,15	0,78
T 12	0,91	1,25	0,43	0,43	0,34	0,68
T 13	1,09	0,81	1,17	1,17	1,08	1,06
T 14	0,74	0,61	0,75	0,52	0,90	0,70
T 15	0,31	0,48	0,39	0,45	0,35	0,39
T 16	0,42	0,52	0,55	0,63	0,65	0,54
T 17	0,33	0,45	0,58	0,59	0,51	0,48
T 18	0,73	0,78	0,85	0,93	0,83	0,82
T 19	0,19	0,25	0,38	0,29	0,26	0,28
T 20	0,55	0,57	0,58	0,62	0,42	0,56
T 21	1,27	0,96	0,96	1,12	1,27	1,12
T 22	0,61	0,85	1,09	0,90	0,99	0,88
moyenne des pertes mensuelles						0,73

Les résultats montrent que la moyenne des pertes mensuelles est de 0,73 g/l avec des extrêmes de 0,27 g/l à 1,70 g/l.

DISCUSSION

UTILISATION ET MAITRISE DU COMPTAGE PAR COULTER :

La technique de préparation des échantillons de lait établie par INRA ainsi que le comptage avec l'appareil Coulter sont des opérations qui ne nécessitent pas, de la part de l'opérateur, une grande technicité. Cependant; pour obtenir de bons résultats, certaines phases de l'analyse exigent des soins et une attention toute particulière :

- Au cours de la conservation ou fixation, les cellules du lait remontent en surface avec la matière grasse. Il faut réchauffer l'échantillon autour de 35 °C et/ou opérer un mélange soigneux avant de faire le prélèvement pour la dilution.
- La vaisselle utilisée pour l'analyse (récipients, tubes, bouchons) doit être parfaitement propre et tenue à l'abri de la poussière.
- Après le traitement du lait par la solution d'électrolyte, les comptages doivent être réalisés dans les 3 heures. Au-delà, des fluctuations sont observées. Néanmoins, quel que soit le temps d'attente, il est recommandé d'homogénéiser soigneusement la solution avant de faire le comptage et d'éviter d'incorporer des bulles d'air. A ce propos, il est conseillé pour chaque dilution de faire passer le liquide dans la sonde quelques secondes avant de commencer le premier comptage pour stabiliser le flux et permettre aux bulles d'air de se disperser.

Nos essais de détermination de :

- **La fiabilité** de nos résultats par rapport aux valeurs du CMT, test approximatif, nos résultats montrent que pour les quartiers dont les sécrétions donnent lieu à des réponses au CMT du type 0, 1 à 2 et 3, la corrélation est bonne (coefficient de corrélation = 1,0). En effet, chacune des valeurs moyennes, du comptage cellulaire obtenu dans notre étude (154 336, 577 051 et 1 339 092,4 cellules /ml), appartiennent aux intervalles de référence définis pour la notation CMT par Shalm et al ; (1957) ; Schneider et al(1966) et Le Roux (1999). Cependant, notre valeur extrême, du comptage cellulaire de 264 500 cellules /ml, associée à la réaction au CMT notée 0, reste supérieure, aux valeurs préconisées par Shalm ; Schneider et al et Le Roux (200 000 cellules/ml). Nous avons probablement interprété ce test comme négatif alors que le lait présentait une trace de réaction.

Le coefficient de corrélation obtenu dans notre étude (1,0) est très proche de celui de PRIKAZSKY (1986) qui est de 0,96. Ceci semble s'expliquer par nos valeurs moyennes du comptage qui sont différentes pour la notation 0 et 3 (247 900 vs 154 336 et 3 750 700 vs 1 339 092,4 cellules /ml) alors qu'elles sont similaires pour la notations de 1 à 2 (577 750 vs 577 051 cellules /ml).

- **La répétabilité** montre une répétabilité globale exprimée par les coefficients de variation de :
 - 4,55 % pour les concentrations cellulaires inférieures à 264 500 cellules /ml avec un écart type entre dilutions de 9 273,57 cellules/ml et entre lectures de 11 008,29 cellules/ml dans 90 % des cas.
 - 0,21 % pour les concentrations cellulaires comprises entre 290 000 cellules /ml et 822 200 cellules/ml avec un écart type entre dilutions de 19 749,49 cellules /ml et entre lectures de 21 571,54 cellules/ml dans 99 % des cas.
 - 0,14 % pour les concentrations cellulaires supérieures à 857 800 cellules /ml avec un écart type entre dilutions de 22 145,56 cellules /ml et entre lectures de 26 738,95 cellules/ml dans 99 % des cas.

En effet, la répétabilité est une procédure de contrôle de qualité de routine couramment utilisée dans les laboratoires professionnels qui permet d'évaluer les performances des nouveaux appareils d'analyse et de vérifier les différentes procédures utilisées (préparations des échantillons et calibrage). Notre essai nous permet de nous situer, en terme de justesse, les résultats par rapport aux laboratoires qualifiés.

Nos résultats sont :

- Similaires à ceux rapportés par Pearson et al (1970 a) où les coefficients de variations globales varient de 2,5% à 0,9%, lorsque les concentrations cellulaires passent de 400 000 à 1 400 000 cellules /ml et ceux de Grappin et Jeunet (1971) pour les concentrations cellulaires comprises entre 200 000 cellules /ml et 1 500 000 cellules /ml avec un coefficient de variation entre lectures de 3,5%.
- Différents de ceux rapportés par Grappin et Jeunet (1973) ; qui trouvent des coefficients de variations de :
 - 5,3 % et 11,3 % avec un écart type entre deux dilutions de 11000 cellules /ml et 23000 cellules /ml pour les concentrations cellulaires inférieures à 250 000 cellules /ml ;
 - 3,2 % et 6,6 % avec un écart type entre deux dilutions de 16 000 cellules/ml et 33 000 cellules /ml pour des concentrations cellulaires comprises entre 250 000 et 750000 cellules/ml.
 - 2,3 % et 2,5 % avec un écart type entre dilutions de 24 000 cellules /ml et 26 000 cellules /ml pour des concentrations cellulaires supérieures à 750 000 cellules /ml.

Nos résultats signifient que la source de variations peut se situer au niveau des lectures pour les concentrations cellulaires inférieures à 264 500 cellules /ml. Ce qui suscite la répétition des lectures sur les dilutions au moins deux fois, et si elles diffèrent de plus de 10 % une troisième lecture est nécessaire rejoignant ainsi les constatations de Pearson et al (1970 a) et Grappin et Jeunet (1973). Toutefois, ces variations diminuent de plus en plus pour les concentrations supérieures à 264 500 cellules/ml. Néanmoins, quelle que soit la source de variations, la répétabilité de nos résultats exprimé par les coefficients de variations pour les différentes tranches cellulaires n'ont pas excédé le seuil de 5 %, seuil, préconisé et recommandé par différents auteurs (Djabri, 1999 ; Leray, 1999) et laboratoires (CECALAIT, France).

Il en ressort que les performances de notre appareillage (Coulter) sont presque similaires à ceux rapportés par Trossat et Loray (1998) pour le somacount 150, qui montrent des coefficients de variations de 4,4 %, 1,5 % et 1,4 % pour des concentrations cellulaires respectives : < 250 000, entre 250 000 et 750 000 et > 750 000 cellules/ml. Ce qui laisse suggérer qu'une réduction des valeurs de répétabilité et de précision accompagne les progrès technologiques développés par les constructeurs dans les appareils les plus récents lesquels rentrent très largement dans les spécifications des normes internationales.

APPLICATION DU COMPTAGE PAR LE COULTER SUR LE LAIT INDIVIDUEL DE VACHE :

Les résultats obtenus par l'analyse bactériologique montrent une prédominance de prévalence d'infections par *Staphylococcus aureus* par rapport aux autres espèces bactériennes (*Escherichia.coli* et *Streptococcus uberis*).

La prévalence moyenne d'infections par *Stapylococcus aureus* est de 77,33% (min 70% et max 91 %).

Par rapport aux autres études réalisées :

- En Algérie, nos résultats sont :
 - Légèrement élevés par rapport à ceux rapportés par Belkhiri et al (1993) qui sont de 63,18 % pour la même région d'étude ;
 - Plus élevés que ceux de Bellala et al (1997) ; Ghazi (1997) et Fernane (2000) qui rapportent des 10,16 % ; 54% et 46%, respectivement.
- Ailleurs, nos résultats :
 - Se situent entre ceux de Messadi (1999) et Roberson (1992), qui sont de 72,7 % et 82,1%, respectivement ;
 - Sont élevés par rapport à ceux de Serieys (1985 a) ; Martel(1991) et Neckrson (1993) qui sont de 55%, 26 % et 40 %, respectivement.

- Sont élevés par rapport à ceux de Serieys (1985 a) ; Martel(1991) et Neckrson (1993) qui sont de 55%, 26 % et 40 %, respectivement.

La prévalence moyenne d'infections par *Escherichia coli* est de 4 % (min 0 % et max 9 %).

Par rapport aux autres études réalisées :

- En Algérie, nos résultats sont :
 - Légèrement faibles par rapport à ceux de Bellala et al (1997) qui sont de 9,3 % ;
 - Relativement faibles par rapport à ceux de Fernane (2000) et de Belkhiri et al (1993) qui sont de 17,5 % et 26,78%, respectivement.
- Ailleurs, nos résultats sont :
 - proches de ceux de Myllyus (1995) et de Aarestrup et al (1997) qui sont de 3,3% et 3,7%, respectivement.
 - Faibles par rapport à ceux de Messadi (1990) ; Martel (1991) et Fabre (1997) qui sont de 9%, 31 % et 18%, respectivement.

La prévalence moyenne d'infections par *Streptococcus uberis* est de 3,66% (min.0% et max 6 %).

Par rapport aux autres études réalisées :

- En Algérie, nos résultats sont :
 - Comparables à ceux rapporté par Bellala et al (1997) qui sont de 4,38 % pour les streptocoques en général ;
 - Faibles par rapport à ceux de Ghazi (1997) et de Belkhiri et al (1993) qui sont de 13 % et 10,04 %, respectivement pour les streptocoques en général.
 - Elevés par rapport à ceux de Fernane (2000) qui sont de 1,25 % pour les streptocoques en général.
- Ailleurs, nos résultats sont :
 - Comparables à ceux de Miller (1991) qui sont de 3,4 %.
 - Relativement faibles par rapport à ceux de Serieys (1985 a) ; Messadi (1999) ; Martel (1991) et Fabre (1997) qui sont de 21 %, 17,1%, 31% et 42 %, respectivement.

La prévalence moyenne d'infections mixtes est de 15 % (min 06% et max 24 %).

Nos résultats sont :

- Proches de ceux rapportés par Oliver et al (1983) et Pankey et al (1991) qui sont de 13,04 % et 15%, respectivement.
- Elevés par rapport à ceux de Serieys (1985 a) et de Badinaud(1994) qui sont de 9,2 % et 5%, respectivement.

Notre méthodologie d'approche pour le suivi des infections mammaires, par examens bactériologiques, a révélé une proportion de :

- Quartiers :
 - non infectés durablement de 66,67 %,
 - infectés durablement de 33,33 %.
- Vaches :
 - non infectées durablement (saines = 17 % et brièvement infectées = 5 %) de 22 %,
 - infectées durablement de 78 % par :
 - *Staphylococcus aureus* au taux de 91 %.
 - *Escherichia coli* au taux de 6 %.
 - L'association de *S. aureus* et *St. uberis* au taux de 3 %.

Ainsi, nos résultats sont:

- Situés dans l'intervalle donné par Griffin et al (1977) qui est de 4 à 51% pour les quartiers infectés durablement avec des diagnostics bactériologiques de trois semaines d'intervalle.
- Comparables à ceux de Weller et al (1992) qui sont de 75 % pour les vaches infectées durablement avec des diagnostics bactériologiques d'une semaine d'intervalle.
- Faibles par rapport à ceux de Serieys (1985a) qui sont de 5 % (quartiers) et 15 % (vaches) infectés durablement, sur la base des diagnostics bactériologiques mensuels, et ceux de Rupp (2000) qui sont de 20 % pour les vaches infectées durablement, suite aux diagnostics bactériologiques réalisés trois fois par lactation (début, milieu et fin).

Il en ressort que les prélèvements de lait réalisés à fréquence répétée permettent d'augmenter la précision du diagnostic bactériologique.

En effet :

- Neave et al (1975) ; Griffin et al (1977) , Poutrel (1985) et Badinaud (1984) ; Serieys (1985a) et Prikazsky (1986) rapportent une précision du diagnostic pour les quartiers à 97 % pour les sains et à 92,1 % pour les infectés, détectés au premier prélèvement et confirmés par la suite quand les prélèvements sont réalisés à une fréquence variant de 48 h à quelques semaines.
- De plus, Prikazsky (1986) rapporte que *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus (agalactiae, dysgalactiae, uberis)* sont isolés et confirmés par la suite dans 90% et 95% des cas respectivement.
- Berthelot et al (2001) affirment que pour une excrétion bactérienne intermittente de certains germes, notamment celle de *staphylococcus aureus*, la sensibilité de détection passe de 75% à 94 % après un second prélèvement.

L'utilisation d'un tel protocole est justifiée, d'une part, par la variabilité de l'excrétion des germes dans le lait où un seul résultat ne signifie pas forcément l'absence de germes dans le quartier ; d'autre part, la fréquence des prélèvements permet de déceler certains germes dits contagieux, restant à l'état quiescent dans la glande et qui ne sont éliminés qu'épisodiquement. Ces germes sont responsables d'infections qui durent plusieurs mois et parfois observées d'une lactation à l'autre.

A la lumière de ces résultats, il en ressort que le niveau d'infection de notre cheptel expérimental est très élevé (supérieur à 50 %) et que *Staphylococcus aureus* constitue une infection persistante pouvant être responsable de contagion dans l'exploitation par rapport à *Echerichia coli* et *streptococcus uberis*. Cete hypothèse est confortée par les résultats des travaux de Griffin et al (1977) et Watson (1992) qui expliquent que la prédominance d'un germe pathogène dans une exploitation constitue un obstacle au développement des autres. C'est le cas de *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae* , les plus fréquents, qui lorsqu'ils infectent les trois quart des quartiers sont considérés comme contagieux.

Selon Hanzen (2000) et Berthelot et al (2001), la durée d'infection par *Escherichia coli* est de 10 jours dans 57 % des cas et de plus de 100 jours dans 13 % des cas. Ceci peut expliquer la durabilité d'infection des deux cas observés et la courte durée des autres cas dans notre étude.

La forte incidence des infections durables donc des mammites sub-cliniques et chroniques par rapport à celle des cliniques (9,52%) peut s'expliquer par la dynamique et la pathogénie d'infection par *Staphylococcus aureus*. Cette faible prévalence des épisodes cliniques est rapportée par Badinaud (1994) lors d'infections durables à *Staphylococcus aureus* et aux *streptocoques*. De plus, Faroult (1994) et Rupp (2000) montrent que les germes de réservoir (*Staphylococcus aureus* et *streptocoques*) ne peuvent s'exprimer cliniquement que si les infections sub-cliniques sont nombreuses et qu'un stress diminue les défenses naturelles de l'animal.

Le comptage cellulaire :

- Le comptage cellulaire individuel des laits de mélange des 4 quartiers (CCI) a révélé des taux variant de 87 600 à 7 852 600 cellules /ml avec des taux moyens par vache variant de 183 914,28 à 2 484 133,33 cellules /ml.
- Le comptage cellulaire de troupeau du lait de mélange (NCT) a révélé des taux variant de 683 443 à 1 102 191 cellules /ml avec un taux moyen du troupeau de 818 010,28 cellules /ml.

La confrontation des résultats obtenus par numération cellulaire avec l'analyse bactériologique montre que les taux cellulaires moyens pour les vaches :

- Non infectés est de 200 747 cellules/ml.
- Infectées (brièvement ou durablement) dans un ou plusieurs quartiers par un ou plusieurs pathogènes majeurs (*Staphylococcus aureus* ; *Escherichia Coli* ; *Streptococcus uberis*) est de 672 927 cellules/ ml ;
- infectés par :
 - *Staphylococcus aureus* est de 627 191 cellules/ ml;
 - *Streptococcus uberis* est de 661933 cellules/ ml;
 - *Escherichia coli* est de 863 750 cellules/ ml;

Le taux cellulaire moyen des vaches non infectées est :

- Similaire à ceux rapportés par Natzke et al (1972) ; Toe(1999) et Rupp et al. (2000) qui sont de 214 000, 202 000 et 200 000 cellules /ml, respectivement.
- Elevé par rapport à ceux rapportés par Dohoo et Meek(1982) ; Brooks et al (1982) ; Andrews et al(1983) , Serieys (1985) et Wilson(1997) qui sont respectivement de 180 000, 126 000, 147 000, 52 000 et 20 000 cellules /ml.

Le taux cellulaire moyen des vaches infectées est :

- Similaire à ceux de Brooks et al (1982) qui sont de 650 000 cellules /ml.
- Se situe entre ceux de Serieys (1985 a) et Shukken et al (1991) qui sont respectivement de 534 000 et 842 000 cellules /ml.

Le taux cellulaire moyen des vaches infectées par *Staphylococcus aureus* est :

- Proche de ceux de Jaartsaveld et al (1983) et Schepers et al (1997) qui sont de 713 000 et 776 000 cellules /ml, respectivement.
- Faible par rapport à ceux de Sheldrake et al (1983) , Erskin et al (1987) et Michleutti (1999) qui sont de 950 000 ,1 023 000 et 1 146 000 cellules /ml, respectivement.
- Elevé par rapport à celui de Wilson et al (1997) qui est de 308 000cellules / ml.

Le taux cellulaire moyen des vaches infectées par *Streptococcus uberis* est :

- Proche de celui de Jaartsaveld et al (1983) qui est de 625 000 cellules /ml.
- Faible par rapport à celui de Schepers et al (1997) qui est de 862 000 cellules /ml.
- Elevé par rapport à celui de Wilson et al (1997) qui est de 520 000 cellules /ml.

Le taux cellulaire moyen des vaches infectées par *Escherichia coli* est :

- proche de celui de Erskin et al (1987) qui est de 977 000 cellules /ml.
- situé dans l'intervalle donné par Rainard (1983) qui varie de 700 000 à 3 500 000 cellules /ml.
- Elevé par rapport à celui de Wilson et al (1997) qui est de 373 000 cellules /ml.

Nos résultats, relatifs à la concentration cellulaire moyenne des vaches non infectées donc « bactériologiquement négative » se situent dans la fourchette « 14 000 - 327 000 cellules /ml), rapportée par différentes études. Selon Deluyker et al (1999), les raisons pouvant expliquer ce large intervalle dépendent de la sélection des vaches bactériologiquement négatives, des méthodes de mesure de la CCS et du mode de calcul.

La nette différence observée entre les taux cellulaires moyens des vaches infectés et non infectées (signification au seuil de 0,05) rejoint les constatations faites par Djabri (1999) qui est de l'ordre de

450 000 cellules/ml et Serieys (1985 a) qui rapporte cette différence en facteur multiplicatif allant de 03 à 10. Cette différence est fonction de l'intensité de la réponse cellulaire qui est très variable et est en relation avec la nature du pathogène impliqué et les capacités de défense de l'animal (Rupp, 2000). Néanmoins, les infections par pathogène majeur s'accompagnent d'une élévation du CCS plus importante (Schepers et al., 1997)

En ce qui concerne l'effet des facteurs physiologiques (stade et rang de lactation) qui n'a pas été mis en évidence dans notre étude, ce constat a été signalé par Natzke et al (1972) ; Brooks et al (1982) ; Raubertas et Shook (1982) ; Laevens et al (1997) et Deluyker et al (1999) qui rapportent une importance mineure et négligeable en comparaison avec les variations causées par les agents infectieux.

Notre méthodologie d'approche, pour le diagnostic de l'état d'infection durable des vaches par le comptage cellulaire individuel, montre des seuils de 300 000 et 800 000 cellules/ml permettant une meilleure discrimination des vaches infectées et non infectées durablement par des pathogènes majeurs.

Les seuils déterminés sont :

- Similaires à ceux de Serieys (1985a).
- Différents de ceux rapportés par Leslie(1996) et Hanzen(2000), qui préconisent des seuils minimaux respectifs de 200 000 et 250 000 cellules/ml.

Le diagnostic de l'état d'infection durable des vaches basé sur :

- **Un seul taux cellulaire** montre que :
 - La sensibilité ou probabilité de ce diagnostic à détecter les vaches réellement infectées (positives) est de 0,97. Notre valeur est proche de celle de Mac Dermott et al (1982) et Serieys (1985a) qui sont de 0,95 et 0,83 à 0,94, respectivement.
 - La spécificité ou probabilité de ce diagnostic à détecter les vaches réellement non infectées (négatives) est de 0,39. Notre valeur est faible par rapport à celles de Mac Dermott et al (1982) et Serieys (1985a) qui sont de 0,56 et 0,77 à 0,94, respectivement.
- **Une série de taux cellulaires** selon les règles de Serieys (1985 a) montre que :
 - La sensibilité ou probabilité de ce diagnostic à détecter les vaches réellement infectées (positives) est de 1,0. Notre valeur est :
 - Proche de celle de Serieys (1985 a) qui varie de 0,70 à 0,95.
 - Elevée que celles rapportées par Hanzen (2000) et Sargeant et al (2001) qui sont de 0,80 et 0,67, respectivement.
 - La spécificité ou probabilité de ce diagnostic à détecter les vaches réellement non infectées (négatives) est de 0,77. Notre valeur :
 - S'intègre dans l'intervalle défini par Hanzen (2000) qui est de 0,75 à 0,80.
 - Est faible par rapport à celles de Sargeant et al (2001) et Serieys (1985 a) qui sont de 0,90 et 0,85 à 0,90, respectivement.

Les résultats obtenus, selon notre méthode d'approche, soulèvent certaines remarques :

- Selon Badinaud (1994), les seuils que nous avons déterminé permettent la meilleure ségrégation et restent les plus significatif car les modifications (à la baisse ou à la hausse) augmentent notablement les résultats des faux négatifs ou des faux positifs. Toutefois, Hanzen (2000) signale que pour le seuil de 200 000 cellules/ml avec des prévalences d'infection comprises entre 5 et 50 %, les valeurs prédictives négatives et positives sont relativement constantes et comprises entre 75 et 78 %. Mais l'augmentation de ce seuil à 250 000 cellules/ml, classe correctement, comme infectées et non infectées, 80 % des vaches.

Le diagnostic de l'état d'infection par un seul comptage paraît imprécis pour discriminer les vaches infectées durablement par un pathogène majeur. Les constatations de Mac Dermott et al (1982) ; Serieys (1985 a) et Badinaud (1994) montrent que la variation du nombre de cellules à un

moment donné est trop grande pour servir sans erreur le diagnostic des infections durables. Par conséquent, il faut disposer de deux résultats mensuels au moins pour une meilleure sensibilité.

Le diagnostique de l'état d'infection par une série de comptages en adoptant les règles de Serieyes paraît pertinent sur une longue période. En effet, Reneau (1986) ; Bergonier et al. (1997) ; Le Roux (1999) et Hanzen (2000) confirment que le suivi de la concentration cellulaire des vaches sur une plus longue durée, basé sur les mêmes règles de décisions, constitue un très bon moyen de discrimination des vaches durablement infectées (sub-cliniques et chroniques) par des pathogènes majeurs. De plus, Rupp (2000), suite aux tentatives de détection des mammites cliniques et sub-cliniques, sur près de 150 diagnostics cellulaires différents, aucun de ces derniers ne s'est avéré meilleur que celui de Sereiyis (1985 a).

Il est à noter que la détection des mammites cliniques avec ou sans signes cliniques, en particulier, celles de courte durée, accompagnées d'une élévation de la concentration ne doit pas être basée uniquement sur la concentration cellulaire, mais nécessite l'enregistrement (planning d'étable) car elles peuvent passer inaperçues et augmenter les pourcentages des vaches douteuses. Il est donc usuel et plus pertinent d'observer les numérations cellulaires sur une période plus longue tout en recherchant sérieusement les signes cliniques, comme préconisé par Rupp (2000).

Nos résultats de spécificité reste élevés par rapport aux autres études. Ceci pourrait s'expliquer par l'élévation de la prévalence d'infections de notre cheptel expérimental qui dépasse 50% durant toute l'étude. En effet, Serieyes (1985 a) et Hanzen (2000) notent bien que le diagnostic est de plus en plus précis pour les troupeaux à fort niveau d'infections.

Enfin, le taux moyen de troupeau de 818 010,28 cellules /ml avec le pourcentage de quartiers infectés durablement de 33,33 obtenus par l'analyse bactériologique offrent une similitude avec les résultats des travaux de Poutrel qui estiment à 20 % et plus le nombre de quartiers infectés pour les concentrations cellulaires supérieures à 500 000 cellules /ml pouvant être utilisés comme indicateur du niveau d'infection du troupeau.

APPLICATION DU COMPTAGE PAR LE COULTER SUR LE LAIT DE TANK ET ESTIMATION DES PERTES :

Les numérations cellulaires :

Le taux cellulaire moyen de l'ensemble des troupeaux est de 739 314,81 cellules /ml avec des extrêmes de 276 860 et 1 904 000 cellules /ml. Il en ressort que 86 % des troupeaux ont des taux élevés car supérieurs à 400 000 cellules/ml. Ces résultats sont comparables à ceux de Mtaallah et al(2000) qui rapporte une concentration moyenne de 624 317 cellules /ml.

Il apparaît donc ces troupeaux souffrent gravement de mammites sub-cliniques. En effet, Le Roux (1999) et Hanzen (2000) signalent que, pour des taux cellulaires moyens de 400 000 à 800 000 cellules /ml et 500 000 cellules /ml, respectivement, l'état sanitaire des troupeaux est préoccupant. De plus, quand les taux dépassent 600 000 cellules/ml ; le pourcentage de vaches atteintes de mammites est très élevé et la réforme est de règle pour les incurables.

Cependant, il est à rappeler que ces taux moyens peuvent donner une très bonne idée sur la santé des pis et plus précisément sur le pourcentage des quartiers infectés. Cette relation qui existe entre l'élévation de la concentration cellulaire et le pourcentage de quartiers infectés a été rapporté par Serieys (1985 b) ; Poutrel (1985) et Harmoun (1994) qui donnent des valeurs de 6,2, 12,8 ; 24,3 et 32,6 pour des concentrations cellulaires respectives de 200 000, 400 000, 750 000 et 1 000000 cellules /ml.

Sur la base de ces estimations, les pourcentages des quartiers infectés de notre échantillon sont de :

- 6,2 pour 14 % des troupeaux ayant un taux cellulaire inférieur à 400 000 cellules/ml ;
- 12,8 pour 41 % des troupeaux ayant un taux cellulaire compris entre 400 000 et 750 000 cellules/ml ;
- 24,3 pour 27 % des troupeaux ayant un taux cellulaire compris entre 750 000 et 10^6 cellules/ml ;
- 32,6 pour 18 % des troupeaux ayant un taux cellulaire supérieur à 10^6 .

Toutefois, il faut signaler que notre échantillon présente un pourcentage très élevé de multipares, avec une moyenne de 73 % et des extrêmes de 53 % et 96%. Le pourcentage des primipares varie dans le sens contraire.

Les facteurs responsables de l'augmentation des numérations cellulaires sont nombreux. La parité, par conséquent l'âge semble un facteur très important. En effet, les multipares ont un risque très élevé d'avoir des mammites sub-cliniques que les primipares. Bareille (1998) et Mtaallah et al (2000) rapportent un OR de 1,35, pour des élevages avec plus de 10 % de multipares et qui passent à 3,64 pour un pourcentage de 67 %. Ce risque devient de plus en plus important au fur et à mesure que les vaches avancent en nombre de lactations. Aussi, Tainturier (1989) précise que 19 % des mammites surviennent après la première lactation, 48 % après la deuxième et 60 % après la troisième.

Ceci peut s'expliquer par le fait que les moyens, de l'immunité et de défenses mammaires et l'âge des vaches, évoluent d'une façon inversement proportionnelle comme rapporté par Mtaallah et al(2000). Cependant, Craplet et al (1993) et Bareille (1998) montrent que la sensibilité des vaches aux mammites, en relation avec l'élévation de la concentration cellulaire, n'est pas directement liée au facteur âge mais aux infections antérieures.

Comme décrit par Hilltron (1996) qui indique que les vieilles vaches sont des réservoirs potentiels de germes pathogènes majeurs ; leur réforme s'accompagne généralement d'une amélioration de la situation en matière de mammites dans le troupeau. Dans notre situation, la nécessité d'un renouvellement du cheptel laitier par de jeunes femelles et la réforme des vaches incurables est justifiée.

Les germes isolés, en l'occurrence, *Staphylocoques aureus* (77,27 %) ; *Escherichia coli* (31,83 %) et *streptocoques hémolytiques* (30,33 %) à partir de 92,5 % des échantillons semblent être directement responsables de l'élévation des numérations cellulaires. Néanmoins, ces bactéries peuvent avoir hors, infections mammaires, une origine environnementale (matériel de traite, sol, litière, déjections, eau, mains des trayeurs).

Toutefois, il faut signaler que ces germes sont les plus fréquemment isolées lors des infections mammaires dans nos élevages. En effet, Belkhiri et al (1993) ; Ghazi (1997) ; Bellala et al (1997) et Fernane (2000) trouvent une importante prévalence des infections pour les staphylocoques, les coliformes et les streptocoques. En effet, Berning et al.(1992) et Schepers et al. (1997) notent que leur présence dans la mamelle est le plus souvent responsable des formes sub-cliniques et cliniques accompagnatrices d'une forte augmentation des CCS.

Les travaux de Berthelot et al (2001) montrent qu'un meilleur protocole de surveillance sanitaire des troupeaux doit débuter par un diagnostic bactériologique sur le lait de tank afin de dépister les germes spécifiques de mammites avant de s'orienter vers le dépistage des animaux excréteurs. Ainsi, une étroite relation existe entre l'isolement des germes pathogènes du lait de tank (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* et *Clostridia spp.*) et l'augmentation du pourcentage des quartiers infectés, par conséquent la concentration cellulaire a été confirmé par les travaux de Cullor (1997).

A la lumière de nos résultats, il est à souligner qu'une mauvaise maîtrise de la qualité bactériologique et hygiénique du lait produit dans ces élevages peut avoir une incidence assez grave pour la santé

humaine car certaines souches de staphylocoques peuvent lors de conditions défavorables produire des entérotoxines, résistantes à la chaleur et même à l'ébullition, qui ingérées peut produire chez l'homme de fortes nausées, des vomissements et de la diarrhée (Weisen, 1974).

Estimation des pertes dues aux mammites sub-cliniques :

Les pertes moyennes en lait, estimées par utilisation de modèles statistiques sont de 10,26 % de la production moyenne. Si on considère qu'une vache pie noir ou pie rouge produit, dans nos conditions d'élevage, 5 000 kg de lait en moyenne par an, la perte occasionnée par les numérations cellulaires élevées seraient de 513 kg /vache / an. Cette perte est quantitativement importante car elle persiste aussi longtemps que persiste l'infection comme rapporté par Wattiaux (1996), c'est ce qui justifie l'application d'un programme de lutte contre les mammites sub-cliniques.

La valorisation moyenne des pertes par exploitation serait de 541 728 DA (48 vaches x 513 kg x 22 DA).

La situation de nos troupeaux vis à vis des mammites sub-cliniques n'est pas assez dramatique puisque les pertes que nous avons estimé sont considérées comme moyennes par rapport à la littérature.

De ce fait, elles sont :

- Faibles par rapport à celles de Dobbins (1977) qui sont de 1277 kg /vache / an.
- Similaires à celles rapportées par Rodenburg (1997) qui sont de 10 à 25 %.
- Proches de celles de nos voisins tunisiens (Mtaallah et al, 2000) qui sont de 466 kg /vache / an.
- Elevées par rapport à celles de Blowey (1993) qui sont de 267 kg /vache / an.

La perte moyenne en matière protéique (C/MAT) est estimée à 1,83 %. Nos résultats sont comparables à ceux rapportés par Lambardot (1993) et Mtaallah et al (2000) qui sont de 1,98 %. Cette perte est considérée comme importante, surtout pour la transformation et ce rapport est inversement proportionnel à l'élévation de la concentration cellulaire. En effet, les caséines sont responsables de la qualité du caillé lactique et du rendement fromager. Leur diminution associée aux autres modifications biochimiques entraîne une réduction du taux d'emprésurage, le ralentissement de l'exsudation du sérum qui portent préjudice à la bonne qualité, en l'occurrence, la texture et le goût qui peuvent rendre les produits non commercialisables (Weisen, 1974)

Les pertes moyennes en matière grasse sont estimées à 0,73 g/l et peuvent atteindre 1,70 g/l. Elles sont importantes pour les élevages dont les concentrations cellulaires dépassent 10^6 cellules /ml et qui sont de l'ordre de 18 %. Les pertes, rapportées par Leray (1999), Murphy et al. (1989) et Mtaallah et al(2000) qui sont de 0,50 g/l, sont considérées comme non significatives puisqu'un simple déséquilibre alimentaire peut engendrer une chute pareille de la matière grasse.

CONCLUSION

Les cellules somatiques présentes dans le lait sont pour l'essentiel issues du compartiment sanguin. Ces cellules sont impliquées dans les mécanismes de défense de la mamelle.

La valeur de la concentration en cellules somatique du lait issu d'un échantillon donné est sujette à la variation. Cependant, l'existence d'une norme internationale définissant les protocoles de mesures et les procédures de contrôles permet une bonne fiabilité des résultats.

Le présent travail a permis d'apporter un certain nombre d'éléments permettant de raisonner les possibilités et les modalités d'utilisation du comptage cellulaire ou numération cellulaires pour le diagnostic des mammites et l'estimation des pertes en lait au moyen du Coulter Counter.

Il en ressort, que pour:

□ Notre première partie du travail :

- La technique de préparation et le comptage par le coulter counteur sont des opérations qui ne nécessitent pas, de la part de l'opérateur, une grande technicité
- Les résultats obtenus par cette méthode de comptage sont fiables et assez précis. Nous avons trouvé une bonne corrélation ($r=1,0$) avec le comptage par le test CMT
- La répétabilité des résultats exprimée par le coefficient de variation sont de 4,55 et 0,21 et 0,14 pour les concentrations cellulaires respectives ; <264500 , entre 290 500 et 822 200 cellules /ml et >857800 cellules/ml. Ce qui nous a permis de dire que les résultats sont fiables et répétables pour les procédures d'étalonnage opérées

Nous pouvons conclure donc que les performances de cet appareil sont bonnes et que cette méthode de mesure de la concentration cellulaire peut servir avec une assez grande précision pour le comptage des cellules somatiques du lait.

□ La deuxième partie du travail qui consiste à essayer d'appliquer cette méthode de comptage pour le lait individuel de vache :

- Les seuils de 300000 et 800000 que nous avons déterminés permettent une meilleure ségrégation de l'état d'infection et de non-infection par un pathogène majeur.
- Le diagnostic d'un état d'infection durable à partir d'un seul taux a révélé une faible spécificité (0,39) ce qui signifie que ce type de diagnostic reste imprécis
- Le diagnostic de l'état d'infection durable avec les règles de décision de Sereyis, a révélé une bonne précision ou la spécificité et la sensibilité obtenues sont respectivement de 0,77 et 1,0.

Nous avons ainsi, conclu que la mesure de la concentration cellulaire du lait individuel de vache sur une longue période constitue un très bon et même un pertinent moyen pour le diagnostic de l'état d'infection durable.

□ La troisième partie du travail pour le comptage des cellules somatiques du lait de tank réalisé sur un échantillon de 22 troupeaux de la région de la Mitidja nous a permis de révéler que :

- 86% des troupeaux ont une concentration cellulaire supérieure à 400000 cellules /ml et dont la moyenne des troupeaux est de 739314,81
- Une mauvaise qualité hygiénique et bactériologique des laits produits dans ces élevages avec une prédominance de prévalence de *Staphylococcus aureus*.
- Les pertes, quantitatives et qualitatives en lait en été estimées respectivement à 513 kg/vache / an et à 1,83% pour la matière protéique et de 0,73 g/l pour la matière grasse.

Il ressort, que la majorité des troupeaux de notre échantillon présentent une numération cellulaire élevée. Ceux-ci signifient que nos élevages laitiers souffrent gravement des mammites sub-cliniques et ou chroniques et qui par conséquent engendrent des pertes quantitatives et qualitatives très importantes.

RECOMMENDATIONS

Pour promouvoir notre élevage bovin laitier, la lutte ou la prophylaxie des mammites surtout celles des sub-cliniques doit faire l'objet d'un impératif qui se traduit par la mise au point d'un programme régional ou national de lutte contre ces dernières comportant dans un premier temps :

- La mise au point de cette méthode de comptage cellulaire dans les laiteries et ou instauré des laboratoires de contrôle laitier.
- Une surveillance systématique de l'état sanitaire des troupeaux par des mesures mensuelles de la concentration cellulaire individuelle des vaches et du lait de tank d'une durée minimale de trois mois.
- Etablir une valeur de seuil du taux cellulaire dans le lait de mélange. Pour cela nous proposons dans un premier temps, à la lumière de la moyenne des taux cellulaires de tank, 600 000 cellules /ml comme seuil.
- Caractérisé les troupeaux, ayant les concentrations cellulaires les plus élevé et proposé les mesures indispensables de luttés et de prévention contre les mammites, dans les grands axes visent :
 - A minorer la pression microbienne en réduisant le nombre des mamelles infectées sub-cliniquement par un suivie des résultats du traitement hors lactation et des décisions de réforme.
 - Restaurer ou conforter la défense des mamelles ou des trayons par des méthodes d'hygiènes ciblés (trempages)
 - Détection et traitement des mammites cliniques pendant la lactation en vue d'obtenir la guérison bactériologique.
 - Mise en œuvre systématique d'un traitement hors lactation en vue de guérir les infections sub-cliniques contractées pendant la lactation
- Etudier les facteurs de succès pour les troupeaux a moindre concentration cellulaire.

Dans un deuxième temps, introduire le critère de la mesure de la concentration en cellule somatique pour le paiement du lait a la qualité au seuil proposé ou au-delà duquel le lait sera sanctionné et en dessous duquel le producteur peu bénéficier de primes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aarestrup F.M ,Jensen NE . 1997 .Prevalence and duration of intrammary infection in during the peripartum period . Journal of dairy science. 80:307-312.

Ali AKA, Shook GE. 1980. An optimum transformation for somatic cell concentration in milk.J . Dairy Sci. 63: 487-492

Anderson K.L.,Smith A.R., Spahr S.L.,Gustafsson B.K., Hixon J.E., Weston P.G., JasterE.D.,Shanks R.D., Whitmore H.L. 1983, Influence of the oestrus cycle on selected and cytology characteristics of milk of cows with sub clinical mastitis . American journal of veterinary research 944,677-680

Andrews R.J., Kitchen BJ, Kwee W.S., Duncalfe F. 1983. Relationship between individual cows somatic cell counts and the mastitis infection status of the udder .Aust.J Dairy.Technol June, 71-74.

Atroshi F., Parantinen J., San kari S., Jarvinen M ., Lindberg LA ., Saloniemi H .1996. Changes in inflammation related blood constituents of mastitis cows .Veterinary Research .27,125-132.

Auldism M.J., Coats S., Sutherlands B,J., Mayes J.J., Mc Dowell G.H., Rogers G.L. 1996. Effects of somatic cell count and stage of lactation on raw milk composition and the yield and quality of cheddar chesses. Journal of Draiy Research. 63, 269-280.

Badinaud F .1994. Maîtrise du taux cellulaire du lait Recueil de médecine vétérinaire "numéro spécial".Qualité du lait .491-427.

Bakken J ; Thorbuin M.1985. National veterinary institute ,also norwy Acta Vet Scand 26,73.

Bareille N., Seegers H., Fourichon C., Beaudeau F., Malher X. 1998. Survenue et expression des mammites cliniques et subcliniques en troupeaux bovins laitiers: facteurs de risque liés la conception et l'utilisation du bâtiment. Renc. Rech. Ruminants 5: 297-300.

Barkema H.W., VanDer Schans J., Schukken Y.H., De Gee A L.W., Lam T.J.G.M., Benedictus G.1997. Effect of freezing on somatic cell count of quarter milk scrapples as determined by a fossomatic electronic cell counter. J. Dairy. Sci. 80: 422-426.

Barkema H.W., Schukken Y.H., Lam T.J.G.M., Wilmink H., Beiboer M.L., Benedictus G., Brand A.1998 a. Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk cell count. J Dairy Sci. 81:411-419

Barkema H.W., Schukken Y.H., Lam T.J.G.M, Beiboer M.L., Benedictus G., Brand A. 1998b.Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. 1 All cases.J Dairy Sci. (soumis)

Barone R.1990. Anatomie compare des animaux domestiques splanchnologie, vigot Ed., 455-463.

Beaudeau F, Hortet P, Fourichon C, Seegers H. 1997. A méthode to determine cut-off values in milk somatic cell counts to characterize udder health of dairy cows using test-day results. Epid, miol. Sant, Anim. 31-12061-12063.

Beens H.Luquet F.M. 1987. Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers. Ed ; Technique et document lavoisier pp :63-67.

Beguïn M. 1994. La qualité du lait : Point de vue des transformateurs et conséquence sur le système de paiement. Recueil de médecine vétérinaire. Numéro spécial qualité du lait. Alfort pp 345-351.

Bellala r & benamar y (1997). Les mammites bactériennes en élevage laitier de la Mitidja. Projet de fin d'études, Institut des sciences vétérinaires, Université de Blida.

Belkhiri .A., Kaidi.R., Mohamed ousaid A. 1993 . Contribution a l'étude des mammites en Algérie. PP :1-6.

Bergonier D., Lagriffoul G., Berthelot X., Barillet F. 1994a. 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

Bergonier D ., Blanc MC., Fleury B, Lagriffoul G., Barillet F., Berthelot X .1997. Les mammites des ovins et caprins laitiers étiologie, épidémiologie, contrôle . Rencontre Recherche Ruminants .4:251-260.

Berning LM, Paape MJ, Miller RH, LeDane RA. 1987. Variation in N-Acetyl-p-D-Glucosaminidase activity and somatic cell count among various milk fractions. J. Dairy.Sci. 70:1054-1060.

Berning L.M, Shook G.E. 1992 . Prediction of mastitis using cell count, N-Acetyl-beta-D-glucosaminidase, and lactose .Journal of dairy science,75,1840-1848.

Berthelot X ., Bergonier D. 2001 . Diagnostic bactériologique des mammites :pourquoi, comment et qu'en attendre.? . Numéro spécial SNGTV N° 12. PP : 31-33.

Blowey R. 1993 . Premilking teat disinfection. A review cattle practice,1,3;197.

Billon P., Sauv,e O., M,nard J.L., Gaudin V. 1998. Influence de la traite et de la machine traire sur les numérations cellulaires et les infections mammaires chez la vache laitière. Renc. Rech. Ruminants. 5:305-312.

Bodoh G.W., Battista W.J., Schultze L.H. 1975. Variation in somatic cell counts in dairy herd improvement milk samples. J Dairy Sci. 95: 1119-1124.

Boettcher P.J., Hansen L.B., Van-Raden P.M., Ernst C.A. 1992. Genetic valuation of Holstein bulls for somatic cell counts of daughters. J Dairy Sci. 75: 1127-1137.

Bramman H., Bramey A.J. 1973. The of hygiene preventing intramammary infection Technican.bultin. n°4, 53-65.

Brooks B.W., Barnum D.A., Meek A.H. 1982. A survey of mastitis in selected Ontario dairy herds. Can. Vet. J23:156-159.

Brooks B.W., Bamum D.A. 1984. Expirimental colonization of the bovine teat duct with *Corynebacterium bovis* and the effect on milk somatic cell counts. Can. J. Comp. Med. 48:141-145.

Brouillet P. 1998. l'élaboration du lait et son contrôle hormonal chez la vache. bulletin des G.T.V., 88, 4 B 326-332.

Burvenich C., Dosogne H., Guidry A.J., Paape M.J., 1998. Mécanismes immunitaires dans la mamelle en lactation in le nouveau péripartum ; société, Française de buiatre. Navel et Scheler E.D., Paris 256-273.

Capuco A.V., Smith J.J., WALDO D.R., Rexrodad C.E. 1995. Influence of prepubertal dietary regimen on mammary growth of Holstein heifers Journal of dairy science .78,2709-2725.

Casamitjana PH. 1999 Qualité du lait et risques pour la santé humaine Journées nationales GTV- INRA Nantes. Session : Antibiotirapie et antibiorésistance. pp 533-537.

Concha C .1986. Cell types and their immunological functions in bovine mammary tissue and secretion. A review of the literature Nor disk veterinary medicine .38,257-272.

Concha C., Holmberg O., Astrom G., 1986. Cells round in non infected and staphylococcus infected bovine mammary quarters and their ability to phagocytose fluorescent micro spheres
Journal of veterinary medicine B 33 , 371-378.

Coulon J.B., Dauver F., Garel J.P . 1996. Facteurs de variation de la num,ration cellulaire du lait des vaches laitières indemnes de mammites cliniques. INRA Prod. Anim. 9: 133-139.

Coulon J.B, Pradel P., Cochard T., Poutrel B . 1998. Effect of extreme walking conditions for cows on milk yield, chemical composition and somatic cell count. J. Dairy. Sci. 80: 994-1003.

Craven N., Williams M.R. 1985. Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement. Vet. immunol. and immunopatholy. 10: 71-127.

Craplet C., THIBIER M. 1993 .La vache laitière. édition vigot-frère. Paris, 2^{leme} édition

Cullen G.A. 1965. The use of electronic -counters for determining the number of cells in milk Vet .Rec.77,858.

Cullen G.A. 1966. Cells in milk. The Veterinary Bulletin. 36: 337-346.

Cullor.G.L. 1997. Effect of mastitis on milk yield,milk compositon ,processing properties and yield quality of milk products.Australian Journal of Dairy Technology.39,7-16.

De clermont R . 1992. les cellules dans le lait de chèvre. Institut de l'élevage Paris France pp 68.

Deluis C .1983. Equilibre endocrinien et production laitière bulletin technique C.R.Z.V theix I.N.R.A , 53,27-36.

Deluis C. Richard.L. 1991. Secretion composition during bovine mammary involution and the relation type with mastitis.Int J.BIOCH 19,1165-1172.

Deluyker H.A., Gay J.M., Weaver L.D. 1993. Interrelationships of somatic cell count, mastitis, and milk yield in a low somatic cell count herd. . J. Dairy. Sci. 76: 3445-3452.

Deluyker . H., Leavens H. 1999 . Prise en compte de la concentration cellulaire pour l'évaluation de l'efficacité des traitements des mammites. Journée nationale SNGTV ; Session spéciale : Les cellules somatiques du lait. PP : 93-97.

Djabri B. 1999. Nature et rôle des cellules somatiques présentes dans le lait et facteurs de Variations de leur concentration chez la vache laitière. M,moire de D.E.A de biologie et production animale Rennes.

Dohoo IR, Meek AH. 1982. Somatic cell counts in bovine milk. Can. Vet. J , 23: 119-125.

Dohoo I.R., Meek A.H., Martin S.W. 1984. Somatic cell counts in bovine milk: relationships to production and clinical episodes of mastitis. Can. J. Comp. Med. 48: 130-135.

Dobbins C.N. 1977 .Mastitis losses J.A.V.M.A,170,(10), 1129-1132.

Dosogne H.,Arendit J., Gabreil A., Burvenich C. 2000. Aspects physiologiques de la sécrétion laitière par la mamelle bovine:Ann . Méd .Vét.144 .357 .382.

Duhamel G.E., Bemoco D., Davis W.C ., Osburn B.1. 1987. Distribution of tend B lymphocytes in mammary dry secretion colostrums and blood of adult dairy cattle Veterinary immunology and immunopathology . 14,101-122.

Elbers A.R.W., Miltenburg J.D., De Lange D., Crauwels A.P.P., Barkema H.W., Schukken Y.H.1998. Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of the Netherlands. J Dairy Sci. 81: 420426.

Emanuelson U., Persson E. 1984. Studies on somatic cell counts in milk from Swedish dairy cows .Acta Agric. Scand . 34: 33 -44.

Erik P.H .1997. Histologie du tissu sanguin .256-277

Erskin A.R. W., Eberhart R. G., Spencer S. B. 1987. Herd management and prevalence of mastitis in dairy herds with high and low somatic cell count. Journal of the American veterinary medical association, 190,1411-1116.

Faroult B. 1994. Méthodologie d'approche des infections mammaires en troupeau laitier et maîtrise de la qualité hygiénique du lait. Rec Med Vet. 170 (6/7), 469-478.

Fabre J.M., Morvan H., Berthelot X. 1997. Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France.parte 1 : Mammites cliniques. bulletin des GTV ,1997,552, 17-23.

Flee I.R, Goode J A. Secretory activity of goat mammary glands during pregnancy and onset of lactation J.Physiology.,251,763-773.

Fernane Habiba (2000). Etude des mammites d'origine bactérienne chez le bovin laitier dans l'ouest Algérien. Mémoire de magister, ISV, Centre universitaire de Tiaret.

Ferrah A .2000. L'élevage bovin laitier en Algérie: problématique, questions et hypothèses pour la recherche .journées sur la production Animales. TIZI OUZOU 24 -28.

Flower 1990 P A.; Knitght. C.H.; Cameron .G.G. In vivo studies of mammary development in the goat using magnetic resonance imaging .J.Reprod .Fert .89,367-375.

Gennaro R.B ., Dewald B., Horisberger U., Gubler H.U ., Baggiolin M. 1983. A novel type of cytoplasmique granule in bovine neutrophils Journal of cell biolgy .96,1651-166 1.

Ghazi K. 1997 . Thèse : Incidence des mammites sur les différent élevages bovins dans la wilaya de Tiaret 1-92.

Giesecke W.H ., Vanden Hee ver L.W . 1967.in INRA 29.

Grappin R., Jeunet R ., 1971. Essais de l'appareil compteur coulter utiliser pour la détermination du nombre totale des laits de troupeaux I.N.R.A station expérimentale laitière (3 9) poligny. Extrait de la revue le lait n : 505-508 .273-293.

Grappin .R., Jeunet R. 1973 . Essai d'une chaîne automatique de numération des cellules du lait utilisant le « COMPTEUR COULTER ». Revue laitière Française .313 :737-293.

Grappin .R., Jeunet R. 1974. Premiers essais de l'appareil «Fossomatic» pour la détermination automatique de numération de cellules du lait.le lait, 54 : 627-644.

Grasso P.J ., Scholz R.W ., Eberhart R.J ., Erskine R.J. 1987 Phagocytosis bactericidal activity and oxydative metabolism of mammary neutrophils from selenium -adequate and selenium deficient dairy cows Journal of dairy science . 70 , suppl 1.

Greer D.O., Pearson J.K.L. 1976. Reproducibility of electronic cell counts in milk, a study of 5 further factors. J Dairy. Res. 43: 371-379.

Griffin T.D., Dodd F.H ., Neave F.k ., Westgrath D.R. ,Wilson C.D. 1977.A methods of diagnostic intrammary infection in dairy cows for large experiments. Journal of dairy research, 44,25-45.

Grohn Y.T, Erb H.N, Mac- Culloch C.E., Saloniemi H.S. 1990. Epidemiology of mammary gland disorders in multiparous Finnish Ayrshire. Prev. Vet. Med. 8: 241-252.

Groothuis.F. 1981.Streptococcal and staphylococcal mastitis.Syposium on bovine mastitis .The Veterinary clinics of north america. 6,269-2853.

Guidri A.T., Paape M.J., Pearson R.E.1975. Effects of estrus and exogenous estrogen on Circulating neutrophils and milk somatic cell concentration neutrophil phagocytosis and occurrence of clinical mastitis in cows. American journal of veterinary research. 36,1555-1560.

Hallberg J.W., Dame K.J., Chester S.T., Miller C., Fox L.K., Pankey J.W., Nickerson S.C , Xeaver L.J .1995. The Visuel appearance and somatic cell count of mammary secretions collected forms primigravid heifers during gestation and early postpartum . Journal of Dairy science. 78 : 1629-1636 .

Hanzen CH. 2000 . Preupédeutique et pathologies de la reproduction male et femelle , biotechnologie de la reproduction ,pathologie de la glande mammaire .3^{leme} et 4^{leme} édition OC , université de liège .

Harfeild. H . 1973. Presentation sur le coultter automatique des cellules somatiques pp, 1 - 12.

Harmoun R.J.1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. J Dairy.Sci . 77 :2103-2112

Hartmann P.E.1973. Changes in the composition and yield of mammary secretion of cows during the initiating of lactation .J.Endocrinol.59.231-247.

Heegard C.W., Rasmussen L.K., Andreassen P.A.1994. The plasminogen activation system in bovine milk : differential localisation of tissue type plasminogen activator and urokinase in milk fractions is caused by budding to casein and urokinase receptor. Biochimica et Biophysica acta. 1222,45-55.

Heidrich H.J ; Renk W.1967. Inflammation of udders in: Disease of the mammary glands of domestic animals, sanders ,W.B.Phidalphia p.a. 113-116.

Heuchel .T. Sommellier.F. 1997. Diagnostic bactériologique des infections de la mamelle de vache . Ann. Nutr.Alim. 6,287-316.

Hill A.W.1991. Somatic cells Friends or foes. Flem Vet J. 62, Suppl. 1, 217-232.

Hilletron J.E. 1991. Proceeding of British mastitis conference. Stoneleigh. U.K.

Hilltron J.E. 1996 . Control of mastitis .in : Progress in dairy science. CAB international, 171-190.

Hortet P., Seegers H .1998. Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. Prev.Vet.Med. 37 :1-20.

IDF. 1995. Norme IDF 148A: 1995. Bull Int. Dairy Fed. N : 305/1995.

INRA/Institut de l'Elevage. 1997. Indexation Bovine Laitière, 97-5.

Jaarstveld F.H.J., Van Puffelen E., Oskam J., Tielen M.J.M, Versteegen N.W.A., Albers G.A.A.1983. Somatic cell counts in milk of dairy cows in relation to stage of lactation, age, production level and presence of pathogens. Neth. Milk. Dairy. J 37: 79-90.

Jammes H., Djiane J. 1988. Le développement de la glande mammaire et son contrôle hormonale dans l'espèce bovine. I.N.R.A Production Animal . 1,299-310.

Jorstad A., Farver T.B., Riemann H. 1989. Teat canal diameter and other cows factors with possible influence on somatic cell counts in cow milk. Acta Vet. Sand. 30: 239-245.

Kelly W.R .1971. Diagnostic clinique vétérinaire Maloine. Sa .Editeur.256-259.

Kennedy B.W., Sethar M., Tong A.K.W., Moxley J.E., Downey B.R. 1982. Environmental factors influencing test-day somatic cell counts in Holsteins. J Dairy. Sci. 65: 275-280.

Kirk J.H. 1984. Somatic cells in milk: current concepts. The Compendium on Continuing Education. 6:237-243.

Laevens H., Deluyker H., Schukken Y.H., De Meulemeester L., VanDermeersch R., De Muelenaere E., De Kruif A. 1997. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. J Dairy. Sci. 80:3219-3226.

Lambardot O. 1993 . Impact technico-économique des mammites en élevages bovins laitiers
Mémoire de D.E.A de production animales ; E.N.V . Alfort, 78 p .

Le Page P.H . 1999. Les cellules du lait et de la mamelle Journées nationales G.T.V - I.N.R.A
Nantes. Session : les cellules somatiques du lait pp 7-13.

Leray.o. 1999. Méthodes de comptages des cellules du lait et contrôle qualité, Journées nationales GTV-INRA Session: cellules somatiques du lait pp 85.

Le Roux Y .1994. Qualité, protéique des laits a la production : facteurs de variation et recherche d'indication de protéolyse. Thèse de doctorat de l' I.N.P.L. 133 pages.

Le Roux Y. 1999. Les mammites chez la vache laitière inflammation de la glande mammaire :première pathologie en élevage laitier pp 1 - 10.

Lee C.S., Wooding F.B.P., Kemp P.1980. Identification ,proprieties and differential counts Populations using electron microscopy of dry cows secretion colostrums, and milk from normal cows. Journal of dairy Research .47,39-50.

Lescourret F, Coulon J.B., Faye B. 1995. Predictive model of mastitis occurrence in the dairy cow .J Dairy Sci. 78: 2167-2177.

Leslie K.E., Dohoo I.R., Meek A.H. 1983. Somatic cell counts in bovine milk. The Compendium on Continuing Education 5: 601-610.

Leslie K. E. 1996 .Comptage des cellules somatiques : Interprétation individuelle pour les vaches. Pp 1-6.

Lind F., Eberhart .R.J. 1984. Coliform mastitis.Sympium on bovine mastitis. Vet .Clin.North .America.6.287-300.

Madsen S.P. 1979. Influence of storage and pr,servation of milk samples on microscopie: and fossomatic somatic cell counts. Nord. Vet. Med. 31: 449-454.

Mac Dermott M. P., Erb H.N., Natzke R.P. 1982 . Predictabilité by somatic cell counts to prevalence of intramammary infection within herds. Journal of dairy science. 65:1525-1539.

Marcus E., Kehrli J.R., Dale E., Shuster. 1994. Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. J Dairy. Sci. 77: 619-627.

Martel J.L. 1991 .Le diagnostic bactériologique des mammites. Les mammites de la vache laitière.Paris 18-19 décembre.

Mathieu H. 1985. Facteurs de variations de la composition du lait, lait et produits laitiers, Technique et documentation. Ed Lavoisier, Tome1 pp 125-165.

Mc Donald J.C., Anderson A J . 1981. Total and differential somatic cell counts in secretion from non infected bovine mammary glands; the early non lactation period American Journal of veterinary research. 42,1360-1365.

Messadi L., Ben Miled L., Haddad N.1990. Mammites bovines en Tunisie :bactéries responsables et antibiorésistance .Revue Méd. Vét. 142,313-319.

Messadi L., CHEMLI J., Ben Salem F., Ouali F., Mallek F. 1999 . Mammites cliniques chez la vache : principaux germes isolés et antibiorésistance .colloque : lait ,qualité et santé . Pp 39-41.

Michelutti I., Le Roux Y ., Laurent F . 1997. influence sur l'évolution de la qualité du lait d'une injection intra-atomique de lipopolysaccharid d'Escherichia coli Rencontres Recherches Ruminants .4,357.

Michelutti I., Le RouxY., Laurent F.1999. Influence des cellules sur la composition biochimique du lait et son aptitude a la transformation Journées nationales G.T.V -I.N.R.A Session: cellules somatiques du lait ,Nantes ,pp 115-122.

Miller R.H., Paape M.J., Acton J.C. 1986. Comparison of milk somatic cell counts by coulter and fossomatic counters. J Dairy .Sci. 69: 1942-1946.

Miller R.H., Guidry A.J., Paape M.J., Dulin A.M., Fulton L.A. 1988. Relationship between immunoglobulin concentration in milk and phagocytoses by bovine neutrphils. American journal of veterinary research, 49,42-45.

Miller R.H., Paape M.J., Fulton L.A . 1991. Variation in milk somatic cells of heifers at first calving Journal of dairy science .74,3782-3790.

Mochrie R.D., Monroe R.J. 1978. Fossomatic method of somatic cell counting in milk: collaboratory study. J Assoc. Off. AnaL Chem. 61: 779-784.

Monardes H.G., Kennedy B.W., Moxley J.E. 1983. Habitability of measures of somatic cell count per lactation. J Dairy Sci. 66: 1707-1713.

Monosallier .A. 1994. La prévention des infection intramammaires par l'hygiène .séminaire de la Fédération international des laiteries.29-34.

Mtaallah B., Ouley Z.,Tahri M. 2000 .Taux cellulaire de tank et ses facteurs de risques en élevage bovin laitier intensif . colloque : lait ,qualité et santé . Pp 25-31.

Munro G.L., Grieve P.A., Kitchen B.J. 1984. Effect of mastitis on milk yield, milk composition processing proprieties and yield, and quality of milk products. Australian Journal of Dairy Technology. 39, 7-16.

Murphy S.C., Cranker K ., Senky G.F., Barbano D.M ., Saelen A.I. 1989 influence of bovine mastitis on lipolyse and proteolysis in milk cows. Journal of dairy science. 72:620-626.

Myllyus V. 1995 . Chractérisation of clinical mastitis in primipareus heifers . Journal of dairy science. 78:538-545.

Natzke R.P., Everett. R.W., Postle D.S. 1972. Normal milk somatic cell counts. J. Milk Food Technol. 35: 261-263.

Neave F.k ,OLIVER J. 1975 . Le diagnostic des mammites et des infections mammaires. in : condensé des exposés et discussion du séminaire de la FIL, I.T. E. B., Paris 9-10.

Neckrson S.C. 1993. Eliminating chronic staphylococcus aureus mastitis .Vet Med ,90, 375-381.

Nielen L. Fertir. H. 1992. Influence du stade de lactation sur le nombre de cellules / ml Journal of dairy sci ,55 ,1256 -1260.

Nickerson S.C., Owens W.E., Boddie R.L.1995. Mastitis in dairy heifers : Initial studies on prévalance and control. Journal of Dairy science. 78 : 1607 - 1618

Oliver S.P., Mitchell B.A. 1983. Intramammary infection in primigravid heifers near parturition. Journal of dairy science. 66: 1180-1183.

Oliver - Bousquet M .1993. Les hormones du lait: provenance et rôles I.N.R.A Production Animales .6,253-263.

Oliver S.P., Jayarao B.M .1997. Coagualse negative satphylococcal intramammmary infections in cows and heifers during the no lactating and per parturient periods. Journal Vet Med B 44 : 355-363.

Oltenacu P.A., Frick A., Lindh, B. 1990. Epidemiological studies of several clinical discases, reproductive performance and culling in primiparous Swedish cattle. Prev. Vet. Med. 9: 59-74.

Ostensson K., Hageltom M., Astrom G. 1988. Diff,rential cell counting in fraction-collected milk from dairy cows.

Paape M J., Wergin W.P ., Guidry A.J., Pearson R.E . 1979 . Leukocytes second line of defence against invading mastitis pathogen Journal of dairy science 62,135-153.

Paape M,J., Van Oostveld K., Meyer E . 1999. Phagocytic defence of the bovine mammary gland journées nationales G.T.V I.N.R.A Session les cellules somatiques du lait Nantes .pp23-28.

Pankey J.W., Dreschler P.A., Wildam E.F.1991. Mastitis prevalence in primigravid heifers at parturition. Journal of dairy science. 74: 1550-1552.

Park Y.H ., Fox L.K., Hamilton M.J., Davis W.C . 1992. Bovine mononuclear leukocyte subpopulations in peripheral blood and mammary gland secretion during lactation Journal of dairy science. 75,988-1006.

Pearson J.K.L., WRGHT C. L. 1970 a. Factors involved in mastitis control : a comparative study between high and incidence herds .Vet Med .91,615-176.

Perscott S.C et Breed R.S. 1910. The determination of number of body cells in milk by a direct method. *J.inf.dis.*7,632-640.

Phipps.L.W. and Newbood F.H.S.1968 Determination of leucocytes concentration in cow's milk sample and cell counting with a Coulter counter .*J.Dairy Res.*33,465.

Prikazsky M.D. 1986. Contribution à l'étude du traitement hors lactation des mammites chez la vache .thèse doctorat vétérinaire .Alfort .141,175-191.

Poutrel B .1983. La sensibilité aux mammites : Revue des facteurs liés la vache. *Ann Rech Vet* .14 , 89 -104 .

Poutrel B .1985. Généralité, sur les mammites de la vache laitière : Processus infectieux, épidémiologie , diagnostic, méthodes de contrôle. *Rec. Med.Vet.* 161, 497-511.

Poutrel B. Vermesse R., Verneau D. 1999. Utilisation du C.M.T pour le diagnostic des infections mammaires Maîtrise des statut infectieux et de la qualité cellulaire du lait de chèvre par l'utilisation du post trempage :Résultats expérimentaux et données de terrain Journées nationales GTV-INRA Session :Antibiothérapie et antibiorésistance pp : 527-528.

Pyorala S., Pyorala E .1997. Accuracy of methods using somatic cell count and N-Acetyl - B-D- glucoseaminidase activity in milk to assess the bacteriological cure of bovine clinical mastitis. *Journal of Dairy science* . 80 : 2820-2825.

Radostits ,O.M ; Blood DC; Gay. C.C .1997. A text book of the diseases of cattle , sheep, pigs, goats and horses veterinary medicine :15,576,Eighth Edition Saunders.

Rainard P.1979. Traitement des mammites de la vache laitière. Thèse .Doc .Vet .5-12.

Rainard P., Caffin J.P. 1983. Sequential changes in serum albumin, Immunoglobulin Ig G 1, Ig G2, Ig M and lactoferrin concentration in milk following infusion of escherichia coli into the udder of immunised and unimmunised cows. *Annales de recherches vétérinaires.* 14,271-279.

Rainard P. 1991. Mécanismes immunitaires de défense de la mamelle et leur régulation. Dans: *Mammites des vaches laitières, Société, Française de Buiatrie, Paris, 18-19 décembre 1991*,163-168.

Rainard P., Riollet C .1999. Composants cellulaires et moléculaire impliqué dans le recrutement des polynucléaires dans la mamelle Journées nationales G.T.V-I.N.R.A. Session :cellules somatiques du lait .Nantes pp 75-82.

Raubertas et Shooks J. 1982. Relation entre le score linéaire (ls) le CCI et les pertes en lait *J dairy sci* 65.419-425.

Read JR R.B., Reyers.A.L., Bradshaw J.G., Peeler J.T. 1967. Electronic counting of somatic cells in milk .*Journal of dairy science.* 50.,69-74.

Read JR R.B., Reyers.A.L., Bradshaw J.G., Peeler J.T. 1969a. Evaluating of seven procedures for detection of abnormal milk test scores. *J.dairy Sci.*52.1682-84.

Reents R, Jamrozik J., Schaeffer U., Dekkers J.C.M. 1995. Estimation of genetic parameters of test day records of somatic cell counts. *J Dairy Sci.* 78: 2847-2857.

Reneau J.K.1986. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts mastitis control Journal of Dairy science. 69 : 1708-1720.

Riollet C., Raind P., Poutrel B.1999. Cinétiques de recrutement cellulaire et de multiplication bactérienne après infection. Journées nationales G.T.V-I.N.R.A. Session : les cellules Somatiques du lait. Nantes. pp 67-73.

Roberson S.I.1992. Factors affecting susceptibility to intramammary infection and mastitis an approximate Bayesian.J.Dairy Sci. 80,75-85.

Roguinsky M. 1978. Influence de la mammite sur la composition et l'analyse du lait. bulletin. G.T.V., n° 3 p 1-4.

Rosenberg 1979.Examen clinique des bovin.235-258.

Rulquin H .1997. R, gulation de la synthŠse et de la s, cr, tion des constituants du lait chez les ruminants .4,327-338.

Rupp R, Boichard D. 1998. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, production, udder type traits and milking ease in first lactation Holstein. J Dairy Sci. (soumis)

Rupp R.2000. Analyse g, n, tique de la r, sistance aux mammites chez les ruminant laitiers Thèse doctorat de l'institut national agronomique Paris - Grignon.

Sanchez-Carlo V. 1984. Am Vet Res :45,1771.

Saran A., Leitner G ., Chaffer M. 1998. Differential somatic cell counts in milk. Bulletin of international dairy federation 330,19.

Sargeant J.M., Leslie K.E., Shirley J.E.,Pulkrabek B.J., Lim G.H. 2001. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation.JDairySci;84(9):2018-24

Sanchez-Carlo V. 1984. Am Vet Res :45,1771.

Saumande J, Touze.J-L .1999. Oestrogenes , oestrus et cellules du lait Poster Journées nationales GTV-INRA Nantes. Session : cellules somatiques du lait, pp- 1 84.

Schalm O.W et Noorlander . 1957. Journal of veterinary american.medecine. 130 , 199-204.

Schalm O.W., Lasmanis J. 1968. The leukocytes: origin and functions in mastitis. J A. V. M. A. 153: 1688-1694.

Schalm O.W., Lasmanais E., Jain N.C. 1971. In bovine mastitis, lea and febiger Pheladelphia. , 94- 127.

Schepers A.J., Lam T.J.GM., Schukken Y.H., Wilmink J.B.M., Hanekamp W.J.A. 1997. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. J Dairy. Sei. 80: 1833-1840.

- Schipper C.J.Booy C.J.1968.** Estimation for cell count of assessment of milk .quality ,officiel Org. K Ned Zuiveland ,60,466-68.J.dairy.sci.2777.
- Schneidder.W.D.1966.** Somatic cell counting of milk in production testing programs as amastitis control technique .170,1244-1250
- Schukken, Y. H., Grommers, F. J., van der Geer, D. and Brand, A. 1989.** Vet. Rec. 125,60-63.
- Schukken Y.H., Van degeer D., Grommers F.J., Smit J.A.H, Brand A. 1990.** Intramammary infections and risk factors for clinical mastitis in herds with low somatic cell counts in bulk milk. Vet. Rec. 125 : 393-396.
- Shukken Y.H., Grommes F.J ., Van De Geer D., Erb H.N .,Brand A .1991.**Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count .2. risk factors for escherichia coli and staphylococcus aureus . J Dairy Sci; 74: 826-832
- Schultz M.M., VanRaden P.M., Wiggans G.R. 1994.** Genetic variation in lactation means of somatic cell scores for six breeds of dairy cattle. J. Dairy. Sei. 77: 284-293.
- Seegers H., Fourichons C., Malher X., L'Hostis M. 1994.** A framework for animal health management Veterinary research. 25, 165-173.
- Seegers H., Fourichon C .1997b.** Mammites en élevage bovin laitier: importance actuelle épidémiologie et plan de prévention Rencontres Recherches Ruminants. 4:233-242.
- Seegers H., Fourichon C., Hortet P., Sorensen J.T., Billon D., Barielle N., Beandeu F.1999.** Evaluation des conséquences économiques des stratégies de maîtrise de la concentration en cellules somatique du lait produit par un troupeau de vaches laitières Journées Nationales G.T.V-I.N.R.A .Nantes. Session: Cellules somatiques du lait pp 169-176.
- Serieys F. 1985 a.** Concentration cellulaire du lait individuel de vache: influence de l'état d'infection mammaire, du numéro de lactation, du stade de lactation et de la production laitière. Ann. Rech. Vet. 16: 255-261.
- Serieys F. 1985 b.** Utilisation de la numération des cellules du lait de vache dans la lutte contre les mammites Thèse de l'école nationale supérieur agronomique de Montpellier,83 pp.
- Serieys F., Auclaer J., Poutrel B .1987.** Influence des infections mammaires sur la composition chimique du lait In : le lait, matière première de l'industrie laitière I.N.R.A-C.E.P.C PP 161-170.
- Serieys F. 1995.** Les mammites des vaches laitières collection le point sur le lait cinquième édition institut de l'élevage paris .64 pp.
- Serieys F. 1997.** Le tarissement des vaches laitières édition France agricole. Paris, France.
- Sheldrake R.F., Hoare R.J.T, McGregor G.D. 1983.** Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk. J. Dairy. Sci. 66: 542-547.

Shneider.1966. A.M.J Vet.Res.,27,1169-1175.

Slettbakk T., Jorstad A., Farver T.B., Hird D.W. 1990. Impact of milking characteristic and teat morphology on somatic cell counts in first-lactation norwegian cattle. Prev. Vet. Med. 8: 253-267.

Smith J.W., Schultze D. 1966. Variation in cell counting of milk associated with trine of sample collection. 1. Diurnal variation. J Dairy. Sci. 50: 1083-1087.

Sordillo L.M., Shafer-Weaver K., Derosa D. 1997. Immunobiology of the mammary gland. J Dairy. Sci. 80: 1851-1865.

Soulier .S., Lepourry .L. 1997. Expression of a bovine a lactalbumine trangene in a-lactalbumine -deficient mice can rescue lactation In vivo relationship between bovine a-lactalbumine expression of milk composition .J. dairy sci., 64,145-148.

Stelwagen K., Lacy -Hulbert S.J . 1996. Effect of milking frequency on milk somatic cell count characterstics and mammary secretory cell damage in cows American Journal of veterinary research. 57 902-905.

Tainturier D. 1989. Diagnostic clinique et different des mammites bovines .planches étiduéés par E.N.V .

Targowski S.P . 1983. Role of immune factors in protection of mammary gland Journal of dairy science .66,1781-1789

Taylor B.C , Dellinger J.D., Cullor J.S., Stott J.L. 1994. Bovine milk lymphocytes display the phénotype of memory cells and are predominantly CD8 .Cellular Immunology, 156,245-253.

Trossat P.H., Loray O.1998. Evaluation: Somacount 150. la lettre de CECALAIT avril ;25.

Trinidad P., Nockrson S.C., Alley T.K. 1990. Prevalence of intrammary infection and teat canal colonization in unberd and primigravid dairy hiefers. Journal of Dairy

Toe -Kiebre M.B. 1999 . Facteurs de risque de concentration élevée en cellules somatiques dans le lait de vaches laitières primipares en début de lactation. Mémoire de D.E.A sciences animales 90 p.

Tolle A., Zeidler H ., Heeschen W. 1966. Einverfahren zur electronishen zahlung von milchzellén milchwissenschaft. IN' J.dairy.sci n°2.

Verdi R.G., Barbano D.M. 1991. Effect of coagulants somatic cell enzymes , and extracellular bacterial enzymes on plasminogen activation Journal of dairy science .74,772-782.

Vestweber ; Leipold H.W. 1994. Symptômes lors de mammites modifiées d'après vesteweber. 56-59.

Watts B., Ferny J.1988. Diagnostic bactériologique des mammites. Rev. Med. Vét. Scand.13,275-277.

Wattiaux .G .1996. The effect of a mastitis control system on level of subclinical and clinical mastitis in 2 years. 87,94-100.

Watson D.L.1992. Vaccine. AUST.J. BIOL.Sci:10,359.

Weller J.L., Saran A., Zeliger Y. 1992. Genetic and enviromental relationships among somatic cell count, bacterial infection, and clinical mastitis. J. Dairy Sci. 75: 2532-2540.

Weisen J.P .1974.Prophylaxie des mammites .2. dépistage des mammites,p29. Edition végot frères .

Westgarth D.R .1975. Interpretation of herd bulk milk cell counts in proceed, seminar on mastitis control. FIL IDF, DOL, 85, Bruxelles. 110- 115.

Wiggans G.R., Shook, G.E. 1987. A lactation measure of somatic cell count. J Dairy Sci 70 : 2666-2672.

Wilson RA., Linn JA ., Eberhart RJ . 1996.A study of bovine T-cell subsets in blood and mammary gland secretion during the dry period. Veterinary immunology and immunopathology .13,151-164.

Wilson D.J, Gonzalez RN, Das HH. 1997. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production. J Dairy. Sci. 80: 2592-2598.

Yrstad O., Ron 1. 1979. Variation in somatic cell counts of milk samples from individuel cows. Acta Vet. Scand. 20: 555-561.

Zachos T ., Politis I., Gorwit R.C., Barbano D.M. 1992. . Effect of mastitis on plasminogen activator activity of milk ssomati cells Journal of dairy research.59,461-467.

Zeilder .H.Tolle.A.1969. Suitability of direct and indirect cell counting methods for evaluating udder health and milk quality .Arch.dairy sci.1026.

ANNEXES

ANNEXE I :

Composition des solutions de fixation et d'émulsifiant

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue, l'eau utiliser doit être distillée ou désionisée ou encore de pureté équivalente

1 Solution de fixation : Mélanger 0,02 g d'éosine et 9,4 ml de solution de formaldéhyde à 35%(V/V), et compléter à 100 ml avec de l'eau filtrer ou centrifuger le liquide afin d'éliminer les particules.

2. Mélange émulsionnant électrolytique :

Composition :

1. Ethanol, 96% (v/V) 125 ml.
2. Polyethylene glycol mono ether (triton x100). 20 ml.
3. solution de chlorure de sodium 0,9 g/100ml 855 ml

Préparation

Mélanger soigneusement le polyéthylène glycol mono éther et l'éthanol. Ajouter la solution de chlorure de sodium. Filtrer le mélange avec un filtre approprié (0,2 µm)

Test Number 00001292

Analysis Time: 04-Jun-02 23:02:04
 Time Printed: 04-Jun-02 23:02:23
 Version Z2 Version 1.02



Instrument Settings

Aperture Diameter: 100um *
 Kd: 58.36
 Metered Volume: 0.5 ml
 Dilution Factor: 1E+02
 Repetitions: 1 runs
 Amplifier, Pre-Amp Gain: 179.20
 Amplifier, Main Gain: 128
 Aperture Current: 0.500 mA

Counting Results

Conc./ml > 5.000 um: 5.889 E6
 Conc./ml > 11.00 um: 161400
 Conc./ml Between: 5.727 E6

Cursor Statistics

Size at C1: 10.76 um
 Size at C2: 12.00 um
 Mean 11.25
 Median: 11.16
 Mode: 11.04
 Standard Deviation: 0.355
 Channelyzer Count: 322

Statistical Results

Mean: 6.219
 Median: 5.778
 Mode: 5.003
 Std. Dev.: 1.282

Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count
0.000	0	6.006	474	7.567	112	8.662	32	9.534	5	10.27	21	10.91	11
1.892	0	6.068	548	7.606	122	8.692	43	9.559	27	10.29	5	10.93	5
2.383	0	6.129	500	7.645	128	8.722	21	9.583	43	10.31	0	10.95	5
2.728	0	6.188	394	7.683	112	8.751	43	9.608	27	10.33	16	10.97	5
3.003	0	6.246	458	7.721	85	8.781	32	9.632	11	10.35	0	10.99	11
3.235	0	6.304	394	7.759	64	8.810	21	9.656	21	10.38	0	11.01	5
3.438	0	6.360	367	7.796	85	8.839	32	9.680	16	10.40	5	11.03	21
3.619	0	6.415	346	7.833	128	8.868	43	9.705	16	10.42	11	11.04	0
3.783	0	6.470	362	7.870	112	8.896	11	9.728	16	10.44	5	11.06	5
3.935	0	6.523	340	7.906	101	8.925	48	9.752	16	10.46	16	11.08	16
4.076	0	6.576	229	7.942	101	8.953	32	9.776	11	10.48	16	11.10	5
4.207	0	6.628	293	7.978	96	8.981	21	9.799	27	10.50	5	11.12	0
4.331	0	6.679	277	8.013	74	9.009	32	9.823	11	10.52	11	11.14	0
4.448	0	6.729	277	8.048	69	9.037	16	9.846	27	10.54	5	11.15	11
4.559	0	6.778	229	8.083	69	9.064	21	9.869	5	10.56	0	11.17	0
4.665	0	6.827	218	8.117	53	9.092	16	9.893	5	10.58	21	11.19	0
4.767	0	6.875	223	8.151	43	9.119	32	9.916	11	10.60	11	11.21	5
4.864	0	6.922	287	8.185	37	9.146	11	9.938	5	10.62	0	11.23	0
4.958	2293	6.969	192	8.219	69	9.173	27	9.961	5	10.64	11	11.24	11
5.048	2059	7.015	181	8.252	59	9.199	11	9.984	5	10.66	5	11.26	5
5.135	2054	7.061	207	8.285	74	9.226	21	10.01	27	10.68	5	11.28	0
5.219	1671	7.106	197	8.318	122	9.252	11	10.03	16	10.70	0	11.30	5
5.301	1522	7.150	154	8.350	43	9.279	16	10.05	5	10.72	5	11.32	16
5.380	1032	7.194	144	8.382	69	9.305	32	10.07	21	10.74	0	11.33	0
5.457	1101	7.238	181	8.414	37	9.331	16	10.10	11	10.76	11	11.35	5
5.531	990	7.280	165	8.446	69	9.357	21	10.12	21	10.78	11	11.37	0
5.604	888	7.323	165	8.478	37	9.382	5	10.14	11	10.80	5	11.39	5
5.675	883	7.365	138	8.509	27	9.408	21	10.16	5	10.82	11	11.40	5
5.744	798	7.406	138	8.540	53	9.433	32	10.18	16	10.84	5	11.42	0
5.812	612	7.447	160	8.571	59	9.459	11	10.21	5	10.86	0	11.44	5
5.878	724	7.487	117	8.601	37	9.484	32	10.23	11	10.88	11	11.45	0
5.943	644	7.527	80	8.632	53	9.509	27	10.25	16	10.89	11	11.47	0
												> 12.00	644

Test Number 00001294

Analysis Time: 04-Jun-02 23:04:23
 Time Printed: 04-Jun-02 23:04:42
 Version Z2 Version 1.02

Instrument Settings

Aperture Diameter: 100um *
 Kd: 58.36
 Metered Volume: 0.5 ml
 Dilution Factor: 1E+02
 Repetitions: 1 runs
 Amplifier, Pre-Amp Gain: 179.20
 Amplifier, Main Gain: 128
 Aperture Current: 0.500 mA

Counting Results

Conc./ml > 5.000 um: 147600
 Conc./ml > 11.00 um: 20000
 Conc./ml Between: 127600

Cursor Statistics:

Size at C1: 10.76 um
 Size at C2: 12.00 um
 Mean 11.42
 Median: 11.32
 Mode: 11.24
 Standard Deviation: 0.276
 Channelyzer Count: 43

Statistical Results

Mean: 6.650
 Median: 5.911
 Mode: 5.003
 Std. Dev.: 1.841

Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count
0.000	0	6.006	9	7.567	2	8.662	3	9.534	0	10.27	0	10.91	0
1.892	0	6.068	9	7.606	2	8.692	0	9.559	0	10.29	2	10.93	0
2.383	0	6.129	16	7.645	3	8.722	5	9.583	0	10.31	3	10.95	0
2.728	0	6.188	13	7.683	0	8.751	0	9.608	0	10.33	0	10.97	0
3.003	0	6.246	5	7.721	3	8.781	3	9.632	2	10.35	0	10.99	0
3.235	0	6.304	8	7.759	2	8.810	2	9.656	2	10.38	2	11.01	0
3.438	0	6.360	6	7.796	0	8.839	0	9.680	2	10.40	2	11.03	0
3.619	0	6.415	6	7.833	2	8.868	0	9.705	0	10.42	0	11.04	2
3.783	0	6.470	6	7.870	2	8.896	2	9.728	0	10.44	0	11.06	2
3.935	0	6.523	3	7.906	2	8.925	0	9.752	0	10.46	0	11.08	2
4.076	0	6.576	11	7.942	0	8.953	2	9.776	3	10.48	0	11.10	0
4.207	0	6.628	0	7.978	2	8.981	3	9.799	0	10.50	2	11.12	0
4.331	0	6.679	6	8.013	3	9.009	2	9.823	0	10.52	0	11.14	2
4.448	0	6.729	3	8.048	6	9.037	2	9.846	0	10.54	0	11.15	0
4.559	0	6.778	3	8.083	2	9.064	0	9.869	2	10.56	0	11.17	0
4.665	0	6.827	6	8.117	3	9.092	0	9.893	0	10.58	0	11.19	3
4.767	0	6.875	6	8.151	0	9.119	0	9.916	0	10.60	2	11.21	0
4.864	0	6.922	2	8.185	0	9.146	3	9.938	2	10.62	0	11.23	5
4.958	63	6.969	5	8.219	2	9.173	0	9.961	3	10.64	0	11.24	2
5.048	47	7.015	0	8.252	3	9.199	2	9.984	0	10.66	0	11.26	0
5.135	24	7.061	3	8.285	0	9.226	0	10.01	0	10.68	0	11.28	2
5.219	28	7.106	2	8.318	2	9.252	0	10.03	0	10.70	0	11.30	0
5.301	54	7.150	3	8.350	0	9.279	2	10.05	3	10.72	0	11.32	2
5.380	28	7.194	5	8.382	0	9.305	0	10.07	2	10.74	0	11.33	0
5.457	28	7.238	5	8.414	2	9.331	0	10.10	0	10.76	0	11.35	0
5.531	17	7.280	0	8.446	0	9.357	0	10.12	0	10.78	0	11.37	0
5.604	17	7.323	3	8.478	6	9.382	2	10.14	2	10.80	0	11.39	2
5.675	13	7.365	3	8.509	2	9.408	0	10.16	0	10.82	0	11.40	0
5.744	16	7.406	2	8.540	0	9.433	2	10.18	0	10.84	0	11.42	0
5.812	14	7.447	5	8.571	0	9.459	2	10.21	0	10.86	0	11.44	0
5.878	17	7.487	2	8.601	0	9.484	0	10.23	0	10.88	0	11.45	2
5.943	22	7.527	2	8.632	2	9.509	0	10.25	0	10.89	0	11.47	0
												>12.00	71

Test Number 00001296

Analysis Time: 04-Jun-02 23:06:29

Time Printed: 04-Jun-02 23:06:52

Version Z2 Version 1.02

Instrument Settings

Aperture Diameter: 100um *

Kd: 58.36

Metered Volume: 0.5 ml

Dilution Factor: 1E+02

Repetitions: 1 runs

Amplifier, Pre-Amp Gain: 179.20

Amplifier, Main Gain: 128

Aperture Current: 0.500 mA

Counting Results

Conc./ml > 5.000 um: 159000

Conc./ml > 11.00 um: 14400

Conc./ml Between: 144600

Cursor Statistics:

Size at C1: 10.76 um

Size at C2: 12.00 um

Mean 11.17

Median: 11.20

Mode: 10.92

Standard Deviation: 0.323

Channelyzer Count: 11

Statistical Results

Mean: 6.096

Median: 5.568

Mode: 5.092

Std. Dev.: 1.313

Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count
0.000	0	6.006	9	7.567	0	8.662	0	9.534	0	10.27	0	10.91	3
1.892	0	6.068	16	7.606	3	8.692	0	9.559	0	10.29	0	10.93	0
2.383	0	6.129	6	7.645	3	8.722	0	9.583	1	10.31	3	10.95	0
2.728	0	6.188	7	7.683	4	8.751	1	9.608	0	10.33	0	10.97	0
3.003	0	6.246	9	7.721	3	8.781	0	9.632	0	10.35	0	10.99	0
3.235	0	6.304	7	7.759	0	8.810	0	9.656	1	10.38	0	11.01	0
3.438	0	6.360	6	7.796	1	8.839	3	9.680	0	10.40	0	11.03	0
3.619	0	6.415	6	7.833	4	8.868	1	9.705	3	10.42	0	11.04	0
3.783	0	6.470	1	7.870	4	8.896	0	9.728	1	10.44	1	11.06	0
3.935	0	6.523	6	7.906	1	8.925	0	9.752	0	10.46	0	11.08	0
4.076	0	6.576	7	7.942	0	8.953	1	9.776	0	10.48	0	11.10	0
4.207	0	6.628	3	7.978	3	8.981	0	9.799	0	10.50	0	11.12	0
4.331	0	6.679	7	8.013	0	9.009	1	9.823	0	10.52	0	11.14	0
4.448	0	6.729	6	8.048	3	9.037	3	9.846	0	10.54	1	11.15	0
4.559	0	6.778	4	8.083	1	9.064	0	9.869	0	10.56	0	11.17	0
4.665	0	6.827	1	8.117	0	9.092	1	9.893	0	10.58	0	11.19	3
4.767	0	6.875	6	8.151	1	9.119	0	9.916	0	10.60	0	11.21	0
4.864	0	6.922	4	8.185	0	9.146	0	9.938	0	10.62	0	11.23	0
4.958	67	6.969	6	8.219	0	9.173	0	9.961	1	10.64	3	11.24	0
5.048	77	7.015	1	8.252	1	9.199	0	9.984	1	10.66	0	11.26	0
5.135	54	7.061	1	8.285	3	9.226	0	10.01	0	10.68	0	11.28	0
5.219	43	7.106	3	8.318	1	9.252	0	10.03	0	10.70	0	11.30	0
5.301	30	7.150	4	8.350	3	9.279	1	10.05	1	10.72	0	11.32	0
5.380	34	7.194	3	8.382	0	9.305	3	10.07	0	10.74	0	11.33	0
5.457	40	7.238	3	8.414	1	9.331	1	10.10	1	10.76	0	11.35	0
5.531	31	7.280	4	8.446	0	9.357	0	10.12	0	10.78	0	11.37	0
5.604	21	7.323	3	8.478	1	9.382	1	10.14	0	10.80	0	11.39	0
5.675	25	7.365	6	8.509	1	9.408	0	10.16	0	10.82	1	11.40	0
5.744	22	7.406	6	8.540	1	9.433	0	10.18	0	10.84	0	11.42	1
5.812	16	7.447	1	8.571	0	9.459	0	10.21	0	10.86	1	11.44	0
5.878	12	7.487	7	8.601	0	9.484	0	10.23	0	10.88	0	11.45	0
5.943	27	7.527	1	8.632	1	9.509	0	10.25	0	10.89	0	11.47	0
												>12.00	52

Test Number 00001298

Analysis Time: 04-Jun-02 23:08:47
 Time Printed: 04-Jun-02 23:09:08
 Version Z2 Version 1.02

Instrument Settings

Aperture Diameter: 100um *
 Kd: 58.36
 Metered Volume: 0.5 ml
 Dilution Factor: 1E+02
 Repetitions: 1 runs
 Amplifier, Pre-Amp Gain: 179.20
 Amplifier, Main Gain: 128
 Aperture Current: 0.500 mA

Counting Results

Conc./ml > 5.000 um: 793200
 Conc./ml > 11.00 um: 27800
 Conc./ml Between: 765400

Cursor Statistics

Size at C1: 10.76 um
 Size at C2: 12.00 um
 Mean 11.39
 Median: 11.57
 Mode: 10.81
 Standard Deviation: 0.346
 Channelizer Count: 28

Statistical Results

Mean: 5.727
 Median: 5.341
 Mode: 5.003
 Std. Dev.: 1.057

Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count
0.000	0	6.006	65	7.567	9	8.662	0	9.534	0	10.27	2	10.91	0
1.892	0	6.068	37	7.606	6	8.692	4	9.559	0	10.29	2	10.93	0
2.383	0	6.129	52	7.645	0	8.722	4	9.583	0	10.31	0	10.95	0
2.728	0	6.188	48	7.683	2	8.751	4	9.608	0	10.33	0	10.97	0
3.003	0	6.246	30	7.721	6	8.781	2	9.632	0	10.35	2	10.99	2
3.235	0	6.304	28	7.759	9	8.810	0	9.656	0	10.38	2	11.01	2
3.438	0	6.360	28	7.796	6	8.839	0	9.680	2	10.40	0	11.03	0
3.619	0	6.415	30	7.833	6	8.868	2	9.705	0	10.42	0	11.04	0
3.783	0	6.470	26	7.870	4	8.896	0	9.728	2	10.44	0	11.06	0
3.935	0	6.523	22	7.906	9	8.925	4	9.752	0	10.46	0	11.08	0
4.076	0	6.576	17	7.942	2	8.953	0	9.776	2	10.48	2	11.10	0
4.207	0	6.628	28	7.978	2	8.981	2	9.799	0	10.50	2	11.12	0
4.331	0	6.679	15	8.013	6	9.009	4	9.823	2	10.52	0	11.14	0
4.448	0	6.729	11	8.048	11	9.037	2	9.846	2	10.54	0	11.15	0
4.559	0	6.778	24	8.083	0	9.064	0	9.869	0	10.56	0	11.17	2
4.665	0	6.827	13	8.117	6	9.092	4	9.893	2	10.58	0	11.19	0
4.767	0	6.875	11	8.151	4	9.119	2	9.916	2	10.60	0	11.21	0
4.864	0	6.922	22	8.185	4	9.146	2	9.938	2	10.62	2	11.23	2
4.958	637	6.969	9	8.219	4	9.173	0	9.961	0	10.64	2	11.24	0
5.048	542	7.015	15	8.252	0	9.199	2	9.984	4	10.66	0	11.26	0
5.135	409	7.061	9	8.285	4	9.226	2	10.01	0	10.68	2	11.28	0
5.219	336	7.106	4	8.318	4	9.252	0	10.03	0	10.70	2	11.30	0
5.301	269	7.150	11	8.350	4	9.279	2	10.05	2	10.72	0	11.32	0
5.380	201	7.194	11	8.382	2	9.305	2	10.07	0	10.74	0	11.33	0
5.457	175	7.238	13	8.414	9	9.331	0	10.10	0	10.76	0	11.35	0
5.531	154	7.280	15	8.446	4	9.357	0	10.12	0	10.78	0	11.37	0
5.604	134	7.323	6	8.478	0	9.382	0	10.14	2	10.80	2	11.39	0
5.675	119	7.365	4	8.509	0	9.408	0	10.16	0	10.82	0	11.40	0
5.744	82	7.406	9	8.540	2	9.433	0	10.18	0	10.84	0	11.42	0
5.812	58	7.447	13	8.571	4	9.459	2	10.21	2	10.86	0	11.44	2
5.878	43	7.487	6	8.601	6	9.484	2	10.23	0	10.88	0	11.45	0
5.943	56	7.527	0	8.632	6	9.509	2	10.25	2	10.89	2	11.47	0
												> 12.00	.128

**Test Number 00001302**

Analysis Time: 04-Jun-02 23:14:16
 Time Printed: 04-Jun-02 23:14:39
 Version Z2 Version 1.02

Instrument Settings

Aperture Diameter: 100um *
 Kd: 58.36
 Metered Volume: 0.5 ml
 Dilution Factor: 1E+02
 Repetitions: 1 runs
 Amplifier, Pre-Amp Gain: 179.20
 Amplifier, Main Gain: 128
 Aperture Current: 0.500 mA

Counting Results

Conc./ml > 5.000 um: 595400
 Conc./ml > 11.00 um: 28600
 Conc./ml Between: 566800

Cursor Statistics:

Size at C1: 10.76 um
 Size at C2: 12.00 um
 Mean 11.34
 Median: 11.32
 Mode: 10.87
 Standard Deviation: 0.373
 Channelizer Count: 26

Statistical Results

Mean: 5.842
 Median: 5.419
 Mode: 5.003
 Std. Dev.: 1.125

Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count
0.000	0	6.006	53	7.567	6	8.662	0	9.534	0	10.27	0	10.91	0
1.892	0	6.068	48	7.606	0	8.692	2	9.559	0	10.29	0	10.93	0
2.383	0	6.129	42	7.645	6	8.722	0	9.583	0	10.31	0	10.95	2
2.728	0	6.188	34	7.683	2	8.751	2	9.608	0	10.33	0	10.97	2
3.003	0	6.246	18	7.721	2	8.781	2	9.632	0	10.35	2	10.99	0
3.235	0	6.304	14	7.759	8	8.810	2	9.656	2	10.38	0	11.01	0
3.438	0	6.360	26	7.796	2	8.839	6	9.680	2	10.40	0	11.03	0
3.619	0	6.415	32	7.833	4	8.868	0	9.705	2	10.42	0	11.04	2
3.783	0	6.470	20	7.870	2	8.896	0	9.728	0	10.44	0	11.06	0
3.935	0	6.523	26	7.906	8	8.925	0	9.752	0	10.46	0	11.08	0
4.076	0	6.576	14	7.942	4	8.953	2	9.776	0	10.48	0	11.10	0
4.207	0	6.628	16	7.978	0	8.981	0	9.799	2	10.50	0	11.12	0
4.331	0	6.679	22	8.013	4	9.009	4	9.823	2	10.52	0	11.14	0
4.448	0	6.729	16	8.048	4	9.037	4	9.846	4	10.54	0	11.15	0
4.559	0	6.778	18	8.083	4	9.064	2	9.869	0	10.56	0	11.17	0
4.665	0	6.827	16	8.117	4	9.092	2	9.893	0	10.58	2	11.19	0
4.767	0	6.875	12	8.151	2	9.119	4	9.916	0	10.60	0	11.21	0
4.864	0	6.922	10	8.185	0	9.146	2	9.938	2	10.62	2	11.23	2
4.958	398	6.969	12	8.219	8	9.173	0	9.961	0	10.64	0	11.24	0
5.048	356	7.015	10	8.252	4	9.199	0	9.984	0	10.66	0	11.26	0
5.135	255	7.061	12	8.285	0	9.226	2	10.01	0	10.68	0	11.28	0
5.219	224	7.106	10	8.318	2	9.252	0	10.03	2	10.70	0	11.30	0
5.301	182	7.150	10	8.350	0	9.279	0	10.05	0	10.72	0	11.32	2
5.380	147	7.194	4	8.382	4	9.305	2	10.07	0	10.74	0	11.33	0
5.457	141	7.238	2	8.414	6	9.331	0	10.10	4	10.76	0	11.35	2
5.531	87	7.280	10	8.446	10	9.357	0	10.12	4	10.78	0	11.37	0
5.604	101	7.323	4	8.478	4	9.382	0	10.14	0	10.80	0	11.39	0
5.675	83	7.365	4	8.509	0	9.408	2	10.16	2	10.82	0	11.40	2
5.744	81	7.406	6	8.540	0	9.433	4	10.18	4	10.84	0	11.42	0
5.812	65	7.447	8	8.571	4	9.459	4	10.21	0	10.86	2	11.44	0
5.878	71	7.487	16	8.601	8	9.484	0	10.23	2	10.88	2	11.45	0
5.943	55	7.527	10	8.632	6	9.509	0	10.25	0	10.89	0	11.47	0
												> 12.00	123

**Test Number 00001304**

Analysis Time: 04-Jun-02 23:16:21
 Time Printed: 04-Jun-02 23:16:42
 Version Z2 Version 1.02

Instrument Settings

Aperture Diameter: 100um *
 Kd: 58.36
 Metered Volume: 0.5 ml
 Dilution Factor: 1E+02
 Repetitions: 1 runs
 Amplifier, Pre-Amp Gain: 179.20
 Amplifier, Main Gain: 128
 Aperture Current: 0.500 mA

Counting Results

Conc./ml > 5.000 um: 1.271 E6
 Conc./ml > 11.00 um: 22000
 Conc./ml Between: 1.249 E6

Cursor Statistics:

Size at C1: 10.76 um
 Size at C2: 12.00 um
 Mean 11.41
 Median: 11.39
 Mode: 10.88
 Standard Deviation: 0.353
 Channelizer Count: 14

Statistical Results

Mean: 5.736
 Median: 5.419
 Mode: 5.003
 Std. Dev.: 0.900

Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count	Size (um)	Diff. Count
0.000	0	6.006	105	7.567	5	8.662	2	9.534	0	10.27	2	10.91	0
1.892	0	6.068	110	7.606	5	8.692	0	9.559	0	10.29	0	10.93	0
2.383	0	6.129	94	7.645	7	8.722	2	9.583	2	10.31	2	10.95	0
2.728	0	6.188	69	7.683	11	8.751	7	9.608	2	10.33	0	10.97	2
3.003	0	6.246	57	7.721	7	8.781	0	9.632	0	10.35	0	10.99	0
3.235	0	6.304	85	7.759	11	8.810	9	9.656	0	10.38	2	11.01	0
3.438	0	6.360	57	7.796	5	8.839	0	9.680	0	10.40	0	11.03	0
3.619	0	6.415	64	7.833	16	8.868	9	9.705	0	10.42	0	11.04	0
3.783	0	6.470	50	7.870	9	8.896	5	9.728	0	10.44	0	11.06	0
3.935	0	6.523	57	7.906	11	8.925	2	9.752	2	10.46	7	11.08	0
4.076	0	6.576	57	7.942	9	8.953	5	9.776	0	10.48	0	11.10	0
4.207	0	6.628	39	7.978	5	8.981	0	9.799	0	10.50	0	11.12	0
4.331	0	6.679	39	8.013	7	9.009	5	9.823	0	10.52	0	11.14	0
4.448	0	6.729	46	8.048	2	9.037	0	9.846	2	10.54	0	11.15	0
4.559	0	6.778	46	8.083	2	9.064	0	9.869	0	10.56	0	11.17	0
4.665	0	6.827	39	8.117	9	9.092	2	9.893	0	10.58	0	11.19	0
4.767	0	6.875	34	8.151	2	9.119	0	9.916	2	10.60	0	11.21	0
4.864	0	6.922	21	8.185	0	9.146	0	9.938	0	10.62	0	11.23	0
4.958	790	6.969	25	8.219	11	9.173	0	9.961	2	10.64	0	11.24	0
5.048	745	7.015	21	8.252	0	9.199	0	9.984	2	10.66	0	11.26	0
5.135	674	7.061	23	8.285	7	9.226	0	10.01	0	10.68	0	11.28	0
5.219	564	7.106	37	8.318	9	9.252	2	10.03	0	10.70	2	11.30	0
5.301	425	7.150	18	8.350	11	9.279	2	10.05	2	10.72	0	11.32	0
5.380	363	7.194	37	8.382	2	9.305	0	10.07	2	10.74	0	11.33	0
5.457	286	7.238	16	8.414	7	9.331	5	10.10	0	10.76	0	11.35	0
5.531	247	7.280	21	8.446	7	9.357	0	10.12	0	10.78	0	11.37	2
5.604	212	7.323	18	8.478	5	9.382	0	10.14	0	10.80	0	11.39	2
5.675	149	7.365	7	8.509	0	9.408	2	10.16	2	10.82	0	11.40	0
5.744	121	7.406	7	8.540	5	9.433	2	10.18	0	10.84	0	11.42	0
5.812	117	7.447	7	8.571	5	9.459	2	10.21	0	10.86	0	11.44	0
5.878	130	7.487	14	8.601	7	9.484	0	10.23	0	10.88	2	11.45	0
5.943	135	7.527	21	8.632	7	9.509	0	10.25	0	10.89	0	11.47	0
												> 12.00	105