

ANNEE 2002 THESE: 2002 - TOU 3 - 4136

# DEPISTAGE DES MAMMITES SUBCLINIQUES CHEZ LA BREBIS LAITIERE DEFINITION DE SEUILS OPERATIONNELS DE COMPTAGES INDIVIDUELS DE CELLULES SOMATIQUES

THESE pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE

**DIPLOME D'ETAT** 

présentée et soutenue publiquement en 2002 devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

Yannick, Jean-Marie, Alain MOLES Né, le 13 février 1973 à BEZIERS (Hérault)

Directeur de thèse : M. le Professeur Xavier BERTHELOT

**JURY** 

PRESIDENT:

M. Henri DABERNAT Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEUR:

M. Xavier BERTHELOT Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

M. Dominique BERGONIER Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

#### A NOTRE PRESIDENT DE THESE

#### Monsieur le Professeur H.DABERNAT

Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Bactériologie – Virologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Hommage respectueux.

#### A NOTRE JURY DE THESE

#### Monsieur le Professeur X.BERTHELOT

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la Reproduction

Pour son soutien chaleureux et sa disponibilité dans l'élaboration de notre thèse,

Veuillez trouver ici l'expression de notre vive gratitude et de notre profond respect.

#### Monsieur le docteur D.BERGONIER

Maître de Conférence de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la Reproduction

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Sincères remerciements.

#### **REMERCIEMENTS**

Je tiens à remercier tout particulièrement Messieurs X. BERTHELOT et D. BERGONIER pour l'attention qu'ils m'ont portée et l'intérêt qu'ils ont manifesté à l'égard de mon travail.

D'autre part, j'adresse mes plus sincères remerciements à Monsieur D. CONCORDET pour son aide précieuse, sa disponibilité et ses idées dans le traitement statistiques de nos données.

Mes remerciements seraient incomplets sans une pensée chaleureuse pour l'ensemble du personnel du Service de Pathologie de la Reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse dont j'ai apprécié le sens profond de l'accueil.

A ma mère, qu'elle trouve en ce document le symbole d'un cursus scolaire se terminant enfin, après de longues années de sacrifice. A son honnêteté, a son sens aigu des réalités, à sor amour du travail bien fait,

**A mon père**, ces virus qu'il m'a transmis, sa bonhomie. A son esprit d'initiative, à son sens de l'aventure, à son sens du système D, à son besoin de savoir sur tout faute de tout savoir,

**A mes parents**, merci de m'avoir permis de concrétiser mon rêve d'enfant, merci pour votre complémentarité, je vous aime,

A ma sœur, que l'avenir nous soit plus doux que le passé. J'espère que dans le futur nous saurons tirer profit de nos différents. Petite sœ ur, je te souhaite bonne chance pour tout. Soeurette je t'aime,

A mon grand-père, étoile de berger... A ma grand-mère, son pacifisme. Que la génétique ait fait en sorte de me transmettre son gène de la Sagesse, s'il existe sinon je devrai m'efforcer de l'acquérir! Je vous aime,

A Steph, ce « frère » rencontré à presque 20 ans en septembre 1992, ça va faire bentôt 10 ans. A notre histoire d'Hommes, nos folies scolaires, nos conneries d'ados sur le retour, nos fous rire, nos veillées d'exams, à notre bouillabaisse à venir sur la corniche, à notre amitié, à notre avenir quoi que le destin nous réserve faisons-nous la promesse de toujours aller Droit aux Buts. Je t'aime,

**A Karin**, pour ma plus belle histoire d'Amour, merci. Prend bien soin de toi et soit « maline ». Je te souhaite ce qu'il peut y avoir de meilleur pour la suite,

A Vincent, sa sensibilité à fleur de peau, son don de soi, son cœ ur d'artichaut,

A Françoise, Lucien et Christophe, ma famille Marseillaise, leur sens profond de l'accueil,

A elle, elle, elle... elles se reconnaîtront, je l'espère...

A Ricm, Joce, Stian et pépette, à ses «R » où les académiciens ne les savent pas, à ses pizzas du week-end à pâte feuilletée, à son bronzage made in Thononles-bains?, à ses faux airs de star sur la croisette.

A Miros, à Rage de vaincre, à Rio grande, à Sim, à Twister, à notre complicité, à no émotions communes,

A tous les Coteaux de Yannijean, faites-nous vibrer, faites du bruit,

A Daniel Balavoine, sa rage de vivre, sa générosité, sa détermination,

A Coluche, son humour, sa vivacité d'esprit, son intelligence,

A ceux que j'ai oublié de mentionner et qui ont contribué à ma construction...

Aux jours à venir...

"La vie est un sommeil,

L'Amour en est le rêve."

(Alfred de Musset).

"J'étais un prêtre de Sekhmet, puissant et habile dans son art. Je posais ma main sur le malade et je comprenais. J'étais habile à examiner avec mes mains..."

(phrase traduite d'inscriptions figurant sur des tombes de Hatnub en Egypte, signée

(Aha Nekht, médecin de l'homme et des animaux).

"Passer inaperçue pendant le jour est la première préoccupation de la bécasse. Aussi, dans cette ambition, ne peut-elle que se réjouir de son plumage couleur feuille morte, mêlé de roux et de gris, comme une peinture bigarrée qui la confond. Déguisée par nature, elle se dissimule par stratégie circonspecte, s'isole dans le taillis inextricable, le buisson embrouillé, ou au bord d'une clairière, sous le porche des branches que le soleil traverse en agitant au sol des taches mouvantes, or et ombre, qui jouent en faveur d'une parure chamarrée."

(Jean-Pierre Otte, L'amour en forêt).

"On ne peut compter que sur soi, et encore pas beaucoup."

(Tristan Bernard).

## SOMMAIRE

LES ENSEIGNANTS DE L'ENVT	1
DEDICACES AU JURY	
REMERCIEMENTS	
DEDICACES PERSONNELLES	
UN PEU DE LITTERATURE	
SOMMAIRE	7
TABLE DES GRAPHIQUES	
TABLE DES TABLEAUX	11
I.LA FILIERE OVINS LAIT EN FRANCE: INTRODUCTION	12
II.MATERIELS ET METHODES	18
I.ELEVAGES ET ANIMAUX	19
I.1.LES ELEVAGES	19
I.2.LES ANIMAUX	19
II.PRELEVEMENTS ET TECHNIQUES ANALYTIQUES	20
II.1.LES PRELEVEMENTS	20
II.1.1.CHRONOLOGIE DES PRELEVEMENTS EN ELEVAGE	20
II.1.2.LES PRELEVEMENTS POUR LES CCS	20
II.1.3.LES PRELEVEMENTS POUR LES ANALYSES MICROBIOLOGIQUES	21
II.2. LES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES	21
III.METHODES	22
III.1.DEFINITION DU STATUT INFECTIEUX	22
III.1.1.DE LA DEMI-MAMELLE	22
III.1.2.DE LA MAMELLE ENTIERE	23
III.2.METHODES STATISTIQUES	23
III.2.1.LES STATISTIQUES DESCRIPTIVES	23
III.2.2.LES REGLES DE DECISION	24
III.2.3.LES TABLES DE CONTINGENCES	24

III.Resultats	26
I.STATISTIQUES DESCRIPTIVES	27
I.1.Resultats des analyses bacteriologiques	27
I.1.1.REPARTITION DES ISOLEMENTS EN FONCTION DES ESPECES BACTERIENNES	27
I.1.2.DECOUPAGE DES ISOLEMENTS EN FONCTION DES ESFECES BACTERIENNES	28
I.1.3.IMPORTANCE DES DIFFERENTS PATHOGENES MAJEURS	28
I.1.4.DETAIL DES ISOLEMENTS PRESENTANT UN COUPLE BACTERIEN	29
I.1.5.Detail des couples bacteriens	29
I.1.6.POURCENTAGE D'ISOLEMENTS SUR LA CAMPAGNE	29
I.1.7.CLASSIFICATION DES DEMI MAMELLES	30
I.1.8.CLASSIFICATION DES MAMELLES	31
I.2.Les comptages cellulaires	33
I.2.1.Relation entre le nombre d'isolements par demi-mamelle et la moyenne des Log de leurs CCS	33
1.2.2.Cinétique des CCS des Demi-Mamelles classées Saines et Infectées par le critère n°4	34
1.2.3.Cinétique des CCS des Mamelles classées Saines et Infectées par le critère n°4	34
1.2.4.Cinétique des CCS des Mamelles Infectées uni ou bilatéralement par le critère n°6	38
I.2.5.Moyenne géometrique des CCS de brebis et Statut de leur Mamelle	38
II.RESULTATS DES REGLES DE DECISION	37
II.1.REGLES DE DECISION POUR LES DEMI-MAMELLES	37
II.1.1.EN UTILISANT TOUTES LES VALEURS DE CCS	37
II.1.2.SANS PRENDRE EN COMPTE LE PREMIER CCS	37
II.2.REGLES DE DECISION POUR LES MAMELLES : CLASSIFICATION N°1	38
II.2.1.EN UTILISANT TOUTES LES VALEURS DE CCS	38
II.2.2.EN UTILISANT TOUS LES CCS APRES LES AVOIR RAMENES A L'ORIGINE	38
II.2.3.EN N'UTILISANT QUE CERTAINES VALEURS DE CCS	39
II.3.REGLES DE DECISION POUR LES MAMELLES : CLASSIFICATION N°2	39
II.3.1.EN UTILISANT TOUTES LES VALEURS DE CCS	39
II.3.2.EN UTILISANT TOUS LES CCS APRES LES AVOIR RAMENES A L'ORIGINE	40
II.3.3.En n'utilisant que certaines valeurs de CCS	40

IV.Discussion	41
I.DES MATERIELS ET DES METHODES	
III S III MAN ENGLES EN SES INE MOSES	
I.1.LES ÉLEVAGES ET LES ANIMAUX	42
I.2.LES PRÉLÈVEMENTS ET TECHNIQUES ANALYTIQUES	
I.3.LES METHODES	
II.DES RESULTATS DESCRIPTIFS	43
II.1.LES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES	43
II.2.La prévalence mensuelle	45
II.3.LES CLASSIFICATIONS	45
II.4.LES COMPTAGES CELLULAIRES	46
II.4.1.Relation entre le nombre d'isolements par demi-mamelle et la moyenne des Log de leurs CCS	46
II.4.2.Cinétique des CCS et statut infectieux	46
III.DES REGLES DE DECISION	47
III.1.A LA DEMI MAMELLE	47
III.1.1.EN UTILISANT TOUTES LES VALEURS DE CCS	47
III.1.2.Sans prendre en compte le premier CCS	47
III.2.A LA MAMELLE	48
III.2.1.Classification n°1	48
III.2.2.Classification N°2	49
IV.DE L'OUTIL OPERATIONNEL	50
V.CONCLUSION	51
AGREMENT	54
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	55
LISTE DES ANNEXES	61
ANNEXE N°1: OBJECTIF N°3 DU PROJET EUROPEEN PRENORMATIF « FAIR » N°98.0881	
ANNEXE N°2: LES 6 CRITERES BACTERIOLOGIQUES: CLASSEMENT DES DEMI-MAMELLES	64
Annexe N°3: Classification N°1: Meilleures Sensibilites, Specificites et VP3	66
ANNEYE N°4 · CLASSIFICATION N°2 · MEILLELIRES SENSIBILITES SPECIFICITES ET VP2	68

## TABLE DES GRAPHIQUES

<b>Graphique n°1</b> : production et transformation du lait de brebis en France en 1996 d'après F.Barillet & F.Bocquier (1993)
Graphique n°2: distribution bimodale d'une variable dans une population d'après M.Jenicek & R.Cléroux (1987)20
Graphique n°3 : résultats des 5426 analyses bactériologiques25
Graphique n°4 : détail des isolements staphylococciques
Graphique n°5 : pourcentages mensuels d'isolements à la demi-mamelle28
Graphique n°6 : classement des 709 demi-mamelles par les 6 critères bactériologiques28
Graphique n°7: classement des 346 mamelles selon la classification n°129
Graphique n°8 : classement des 346 mamelles selon la classification n°230
Graphique n°9: relation entre le nombre d'isolements par demi-mamelle sur la campagne et la moyenne des logarithmes de leurs CCS
Graphique n°10 : moyenne géométrique des CCS des demi-mamelles classées par C432
Graphique n°11 : moyenne géométrique des CCS de mamelles classées par C432
Graphique n°12 : moyenne géométrique des CCS des mamelles « infectées unilatéralement ou bilatéralement »
Graphique n°13 : moyenne géométrique des CCS de brebis selon le statut de leur mamelle33

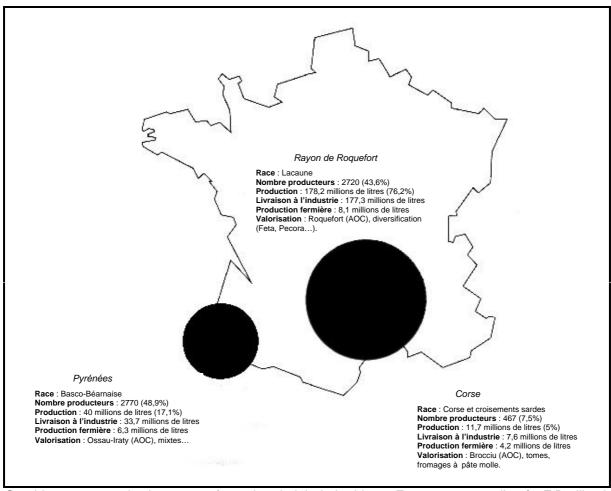
## TABLE DES TABLEAUX

Tableau n°1 : définitions des différentes catégories de mammites (Lebret & Berthelot, 1990)	13
Tableau n°2 : définitions statistiques des différents paramètres d'une table de contingence	23
Tableau n°3 : répartition des isolements en fonction des espèces bactériennes	25
Tableau n°4 : importance des différents germes qualifiés de « pathogènes majeurs »	26
Tableau n°5 : détail des isolements présentant un couple bactérien	27
Tableau n°6 : détail des couples bactériens	27
Tableau n°7 : prévalence moyenne mensuelle à la demi-mamelle	27
Tableau n°8 : classement des 709 demi-mamelles selon les 6 critères	28
Tableau n°9 : classement des 346 mamelles selon la classification n°1	29
Tableau n°10 : classement des 346 mamelles selon la classification n°2	30
Tableau n°11 : nombre d'isolements par demi-mamelle et moyenne des Log de leurs CCS	31
Tableau n°12 : performances et seuils des meilleures règles de décision	35
Tableau n°13 : performances et seuils des meilleures règles de décision	35
Tableau n°14 : performances et seuils des meilleures règles de décision	36
Tableau n°15 : performances et seuils des meilleures règles de décision	36
Tableau n°16 : performances et seuils des meilleures règles de décision	37
Tableau n°17 : performances et seuils des meilleures règles de décision	37
Tableau n°18 : performances et seuils des meilleures règles de décision	38
Tableau n°19 : performances et seuils des meilleures règles de décision	38

## I.La Filière Ovins Lait en France INTRODUCTION

Comme le montre le graphique n°1, en France, la production de lait de brebis est une production régionale qui intéresse principalement 3 zones de production que sont le rayon de Roquefort (départements de l'Aude, de l'Aveyron, du Gard, de l'Hérault, de la Lozère, du Tarn et du Tarn et Garonne qui représentent 78% de la production nationale), les Pyrénées-Atlantiques (17%) et la Corse (5%). Ces différents bassins de production se caractérisent par l'utilisation de races ovines locales ainsi que par des systèmes de production régionaux. Ces races ovines sont respectivement la race Lacaune qui est, par son effectif, la race ovine la plus représentée en France (800000 sont exploitées pour la traite), les races pyrénéennes sont la Béarnaise, la Basco-Béarnaise et la Manech (470000 brebis traites) et la race dite Corse (100000 brebis traites). Rappelons que le lait de brebis diffère des autres laits par sa richesse globale, il est en moyenne deux fois plus riche en matières grasses et presque deux fois plus riche en matières azotées totales que celui de vache ou de chèvre. Voilà pourquoi il est principalement transformé en fromage.

Les produits fromagers issus de la transformation de lait de brebis présentent certaines spécificités d'aspect et de goût (pâte très blanche, absence de goûts amers...) et une typicité marquée. Ainsi chacune des régions de production a pu revendiquer et obtenir son AOC¹. On trouve respectivement le Roquefort, l'Ossau-Iraty et le Brocciu dans le rayon de Roquefort, les Pyrénées-Atlantiques et la Corse.



Graphique n°1 : production et transformation du lait de brebis en France en 1996 d'après F.Barillet & F.Bocquier (1993).

٠

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Appellation d'Origine Contrôlée.

Dès lors, comme pour toute filière laitière, il est aisé de penser que la maîtrise des mammites et le contrôle de la qualité du lait, matière première, et des produits laitiers sont des enjeux majeurs pour son développement. Dans le contexte actuel, la connaissance de l'étiologie des mammites cliniques et subcliniques, leur prévention, leur dépistage et leur traitement revêtent une importance à la fois sociale, économique, réglementaire, sanitaire et génétique.

D'un point de vue sanitaire, la connaissance de la nature, de la fréquence et des modes de transmission des germes responsables des mammites est nécessaire à la mise au point et au choix des programmes de maîtrise de la pathologie mammaire en élevage.

D'un point de vue économique, les mammites cliniques et subcliniques entraînent une réduction de la quantité de lait produit et des modifications de sa composition pouvant dégrader ses aptitudes à la transformation fromagère. J.M.Fabre et al. (1994) ont mis en évidence chez la vache laitière des pertes de production même pour des CCl<sup>2</sup> faibles; chez la chèvre, C.Baudry et al. (1996) en ont également fait la preuve. Enfin chez la brebis laitière de race Lacaune, l'étude de Pellegrini et al. (1994) a montré l'influence d'une augmentation des CCS<sup>3</sup> sur les caractéristiques physicochimiques et sur l'aptitude à la coaqulation par la présure d'échantillons de lait individuels. En résumé, les mammites subcliniques entraînent une augmentation de la concentration en protéines solubles et une diminution du rapport caséine/protéines par amplification du passage passif de certains composants sanguins dans le lait au détriment des processus actifs de synthèse et de transfert; par contre les teneurs en caséines et en matières grasses ne semblent pas être altérées par une augmentation des CCS (A.Pirisi et al., 1998). Pour l'industriel ces modifications sont à l'origine d'une diminution globale de la productivité. En effet, si les données actuelles ne permettent pas de conclure à une baisse du rendement fromager, et si la fermeté finale du caillé semble être indépendante des CCS, les modifications physico-chimiques des laits de brebis à CCS élevés induisent un accroissement significatif du temps de coagulation ainsi qu'une diminution de la vitesse de raffermissement (O.Pellegrini et al., 1994). C'est ainsi que des systèmes incitatifs de paiement du lait en fonction de sa qualité cellulaire ont été mis en place, par l'interprofession dès 1993, dans le rayon de Roquefort. Dans cette zone de production, les pénalités pour défaut de qualité cellulaire s'appliquent dès le seuil des 900\*10<sup>3</sup> ¢/mL de lait. Elles sont de 0,20 franc/L de lait soit 0,03€ pour des laits présentant des CCS compris entre 900\*103 ¢/mL et 1300\*103 ¢/mL et peuvent atteindre 0,45 franc/L de lait soit 0,07 € pour des laits présentant plus de 1300\*10<sup>3</sup> ¢/mL. L'évolution de ces grilles va depuis quelques années dans le sens d'un durcissement de certains seuils et de l'élargissement des critères retenus (recherches de certaines flores spécifiques, comptages cellulaires de tank...). Au niveau communautaire, la Directive 92/46 faisait mention des comptages de cellules somatiques mais n'établissait pas de norme. Ces mêmes comptages de cellules somatiques sont absents de la Directive suivante 94/71.

Enfin des dispositions réglementaires nationales ou communautaires fixent des normes qualitatives et quantitatives à respecter par cette filière, essentiellement caractérisée par la valorisation de lait cru sous forme de fromage à haute valeur ajoutée, en terme de germes présents dans le lait et potentiellement pathogènes pour l'Homme (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella species*). A l'échelle européenne, la directive 92/46, modifiée par la Directive 94/71, a instauré des dispositions spécifiques aux petits ruminants, relatives à la qualité bactériologique des laits (depuis le 1/01/1995). Pour la fabrication des produits au lait cru, le lait ne doit pas contenir plus de 500 *Staphylococcus aureus*/mL afin de prévenir les risques entérotoxiniques. De plus, les récents développements médiatiques, concernant la sécurité des produits laitiers vis-à-vis

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Comptages de Cellules somatiques Individuels.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Comptages de Cellules Somatiques.

des risques bactériologiques, ont confirmé aux filières européennes de petits ruminants laitiers la nécessité d'intégrer la notion de Santé Publique à leur démarche qualité.

Par ailleurs, la brebis et la chèvre font l'objet d'une sélection génétique intense sur les caractères laitiers. Il paraît intéressant de vérifier si la forte amélioration obtenue sur ces caractères ne s'accompagne pas de modifications de la sensibilité aux infections mammaires. La prise en compte de la résistance aux mammites dans les schémas de sélection, se fondant sur la valorisation des CCI, devrait être effective en 2002.

Sur un plan pathologique, on différencie, selon la présence éventuelle de symptômes généraux, locaux ou fonctionnels et l'importance de la réaction inflammatoire, les mammites cliniques : suraiguës, aiguës ou chroniques et les mammites subcliniques présentées dans le tableau n°1.

Tableau n°1: définitions des différentes catégories de mammites (Lebret & Berthelot, 1990).

	Symptômes généraux	Symptômes locaux	Symptômes fonctionnels
Mamelle saine	-	-	-
Mammite subclinique	-	-	-
• chroniques	-	+	+
Mammites cliniques • aiguës	+/-	+	+
• suraiguës	+	+	+

Nous devons donc différencier 2 entités pathologiques que sont les mammites cliniques et subcliniques dont la prévalence dans les élevages et les étiologies chez la brebis laitière sont très différentes. En effet, selon les auteurs, le taux de mammites cliniques varie de 1 à 18%. Le germe le plus fréquemment isolé est Staphylococcus aureus; il représente de 17 à 67% des isolements bactériens. Les SCN1, considérés comme des pathogènes mineurs chez la vache laitière, sont responsables de 9 à 53% des mammites cliniques de la brebis laitière. On en conclut donc qu'en brebis laitière leur rôle ne peut être négligé. Les Streptocoques constituent de 0 à 14% des isolements, les Pasteurelles de 0 à 4%, Escherichia coli est présente dans 1 à 19% des cas. D'autres études sur la brebis laitière (Bayssal et al., 1989 / Fthenakis et al., 1990) mettent en évidence jusqu'à 43% de mammites cliniques dues aux Mycoplasmes. Mais la répartition de ce type de mammite est très variable selon les pays. En France, seul le département des Pyrénées-Atlantiques est concerné par des problèmes de mycoplasmes chez la brebis (agalaxie contagieuse). En ce qui concerne les mammites subcliniques, on retrouve la plupart des germes responsables des mammites cliniques, mais dans des proportions différentes. Les SCN sont les micro-organismes les plus souvent isolés lors de mammites subcliniques. Ils peuvent, en effet, représenter jusqu'à 93% des isolements. Staphylococcus aureus ne revêt pas la même importance, il reste néanmoins responsable de 4 à 52% des mammites subcliniques. Les Streptocoques peuvent représenter jusqu'à 20% des isolements, Escherichia coli jusqu'à 8%, les Corynébactéries et les Bacillus jusqu'à 6% (D.Mouron, 1996). Parmi les espèces de SCN isolées, Staphylococcus epidermidis est l'espèce prédominante. Selon les auteurs, elle peut représenter de 30% à 44% des germes responsables de mammites subcliniques.

Le diagnostic d'une infection mammaire consiste en la mise en évidence du germe responsable de l'infection. Une telle méthode est très sensible cependant les bactériologies sont onéreuses et non réalisables sur le terrain. En routine, d'autres méthodes sont utilisées dans le dépistage des mammites subcliniques et sont basées sur la constatation que l'infection de la mamelle,

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Staphylocoques à Coagulase Négative.

ou mammite, s'accompagne d'une augmentation du nombre de cellules somatiques et plus particulièrement des PNN¹ (Mameli, 1973). Les cellules physiologiquement présentes dans le lait sont les cellules épithéliales provenant de la desquamation continue de l'épithélium glandulaire ou des canaux lactifères et les cellules d'origine sanguine : macrophages, lymphocytes, PNN dont la présence dans le lait est augmentée en cas de processus inflammatoire. En effet, en cas d'inflammation, les PNN représentent plus de 90% du nombre total des cellules. Ils appartiennent, au même titre que les lymphocytes et les macrophages, au système de défense de l'organisme en général et en l'occurrence de la mamelle. La population des cellules phagocytaires, présentes dans le lait en quantité réduite dans une mamelle saine (de 10⁵ à 3\*10⁵ ¢/mL), augmente rapidement par diapédèse à partir du sang (surtout les PNN) lors de la constitution d'un foyer infectieux (Amorena et al., 1992). Les CCS du lait constituent, chez les petits ruminants comme chez la vache laitière, un marqueur pertinent de l'état inflammatoire de la mamelle.

Sur le terrain la méthode utilisée pour le dépistage des mammites subcliniques est le CMT<sup>2</sup>. Ce test est fondé sur la notation des stades de l'intensité de la floculation de l'ADN des cellules préalablement lysées à l'aide d'un détergent. Celle-ci est proportionnelle à la quantité d'ADN et donc à la quantité de cellules somatiques. Ce test est très largement employé par les éleveurs de bovins laitiers et de nombreux auteurs ont étudié son intérêt dans la filière ovine laitière. Ils ont montré que la concordance CMT-bactériologie est comprise entre 60 et 80%, et que celle entre CMT et CCS chez la brebis est bonne pour 87 et 92% des laits présentant les scores "0" et "+/-" (< 250\*103 ¢/mL) d'une part, et "+", "++" et "+++" d'autre part (Ziv et al., 1968, Deutz et al., 1990, Regi et al., 1991, Baumgartner et al., 1992, Marco Melero, 1994, Gonzalez-Rodriguez et al., 1996). Le CMT constitue donc un test de dépistage bien corrélé avec les CCS et d'un grand intérêt pour les petits ruminants, chez qui la réalisation de CCS mensuels exhaustifs reste difficilement envisageable en routine dans tous les élevages, pour des raisons de coût et de faisabilité. Cependant, sa diffusion est actuellement très variable en fonction des zones de production. Le manque de formation à l'utilisation du CMT, auquel s'ajoute une assistance technique encore peu développée dans les bassins de production, expliquent les difficultés rencontrées par les producteurs ainsi que leurs erreurs d'interprétation et constituent un frein à sa généralisation (Y.Frapsauce, 2000). Tout cela atteste des limites de ce test et rend nécessaire l'utilisation d'autres moyens de numération cellulaire comme le Fossomatic.

Cette méthode fluoro-opto-électronique repose sur le dénombrement des noyaux cellulaires rendus fluorescents, après coloration, par un rayonnement lumineux. Cette méthode a été validée chez la vache laitière et la brebis. Une bonne corrélation, de 0,975 à 0,986, a été observée avec la méthode de référence (Hahn et *al.*, 1992 / Gonzalo et *al.*, 1993). C'est pour l'ensemble de ces raisons que les CCS réalisés par la méthode précédente constituent actuellement l'outil technico-économique central des filières laitières.

Notons toutefois que si les variations des CCS restent principalement dues aux infections mammaires, il existe aussi des facteurs de variation non infectieux (physiologiques, zootechniques et individuels) parmi lesquels les facteurs physiologiques sont les plus importants et, au sein de ceux-ci, les variations liées au stade de lactation sont prédominantes.

Chez les bovins, de nombreuses études ont permis de proposer des seuils opérationnels de dépistage des mammites subcliniques (Dohoo & Leslie, 1991, Serieys, 1985). Chez les ovins, deux types d'études ont été publiées, la majorité des auteurs propose un seuil ponctuel permettant la meilleure discrimination "instantanée" entre les mamelles ou demi-mamelles "saines" et "infectées".

-

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> PolyNucléaires Neutrophiles.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> California Mastitis Test.

Les travaux définissant un seuil ponctuel, discriminant en fait les mamelles "saines" des mamelles "infectées" et "douteuses", proposent des valeurs variant de 200 à 500\*10³ ¢/mL (Beltran de Heredia & Iturritza, 1988; Fthenakis, 1994a; Romeo et al., 1994). Les valeurs globales de ces tests, c'est-à-dire le pourcentage de bonnes décisions, lorsqu'elles sont fournies ou calculables, varient entre 79 et 88%. La seconde stratégie consiste à définir une règle de décision plus complexe, telle qu'elle est utilisée chez la vache laitière, distinguant 3 classes d'animaux : « sains », « douteux » ou « infectés » au vu de plusieurs CCS réalisés mensuellement sur l'ensemble de la lactation. Cette seconde méthode semble plus pertinente, compte tenu de la très forte prévalence des SCN, dont le pouvoir pathogène est variable et de l'existence de facteurs non infectieux de variation. L'étude de Bergonier et al. (1994c) fournit un modèle dynamique décrivant des lactations entières, la meilleure règle de décision était la suivante : une demi-mamelle est « saine » si tous ses CCS sauf 1 sont inférieurs à 500\*10³ ¢/mL, «infectée » si au moins 3 CCS sont supérieurs à 1000\*10³ ¢/mL et «douteuse » dans tous les autres cas. La valeur globale de cette règle est de 79,2 %

L'objectif de notre étude est double. Le premier répond à la nécessité de confirmer l'étiologie des mammites subcliniques chez la brebis laitière. Le second consiste en l'élaboration d'un outil opérationnel de dépistage des infections mammaires subcliniques en élevage ovin lait à partir de 2 seuils physiologiques de CCS qui permettent de classer les mamelles en « saines », « douteuses » et « infectées » ou en « saines », « infectées unilatéralement » ou « infectées bilatéralement » en limitant le nombre de CCI nécessaires à cela.

## II.MATERIELS ET METHODES

#### I.ELEVAGES ET ANIMAUX

#### I.1.LES ELEVAGES

Ils étaient au nombre de huit et appartenaient aux deux principaux bassins de production français que sont l'Aveyron et les Pyrénées-Atlantiques. Quatre d'entre eux ont été suivis sur la campagne laitière 1994-1995, les quatre autres ont été suivis sur la campagne 1996-1997.

Les élevages sélectionnés ont présenté au moins une valeur de comptage de cellules somatiques (CCS) de tank (CCT) supérieure à 1500\*10<sup>3</sup> ¢/mL de lait au cours de la campagne précédente et ne pratiquaient pas de traitement antibiotique systématique intra mammaire au tarissement, ni d'antisepsie des trayons en fin de traite.

#### **I.2.LES ANIMAUX**

Notre étude a porté sur 363 brebis de races Lacaune, Manech et Basco-Béarnaise soit un total de 726 demi-mamelles. Nous avons travaillé sur 148 brebis pendant la campagne 1994-1995, et sur 215 pendant la campagne 1996-1997. Nous avons classé 709 demi-mamelles et nous avons étudié 346 mamelles entières.

L'objectif était de suivre, dans chaque élevage et tout au long de la campagne, environ 80% de brebis infectées subcliniques et 20% de brebis saines.

Dans chaque élevage, 70 brebis ont été sélectionnées en début de campagne. Si des CCI avaient été réalisés lors de la campagne précédente, nous avons établi 3 lots de brebis dans lesquels nous avons sélectionné nos brebis. Le premier était composé de brebis infectées chroniques « anciennes » (3 à 4 CCS supérieurs à 600\*10 ¢/mL en milieu de lactation), le second de brebis infectées chroniques « récentes » (valeurs pénultième [6ème prélèvement si 8 prélèvements] et antépénultième [7<sup>ème</sup> prélèvement si 8 prélèvements] des CCS supérieures à 700\*10 ¢/mL), le dernier de brebis nouvellement infectées à la mise bas (tous les CCS inférieurs à 500\*10 ¢/mL). Dans chacun de ces 3 lots, des analyses bactériologiques, des CCS individuels et un examen clinique de la mamelle ont été réalisés pour déterminer le statut après tarissement (infection persistante, autoquérison, nouvelle infection). En l'absence de CCI durant la campagne précédente, nous avons réalisé des CMT par demi-mamelle à la mise bas ainsi qu'une analyse bactériologique et un CCI avec examen clinique de la mamelle. A partir de l'ensemble des femelles sélectionnées, nous avons retenu comme brebis infectées celles pour lesquelles l'analyse bactériologique de sélection était positive pour au moins une demi-mamelle ou, si l'analyse bactériologique de sélection était négative pour les deux demi-mamelles celles présentant à la mise bas au moins un CCS de demi-mamelle égal à 500\*10<sup>3</sup> ¢/mL. Les brebis retenues comme saines ont été celles pour lesquelles l'analyse bactériologique de sélection a été négative et les CCS des 2 demi-mamelles inférieurs à 500\*10 ¢/mL. Dans la mesure du possible, nous nous sommes efforcés de respecter une certaine stratification dans la catégorie des brebis positives en fonction de l'ancienneté de l'infection (proportions égales de nouvelles infections, d'infections chroniques récentes, d'infections chroniques anciennes). De même, à l'intérieur de chaque classe de brebis infectées nous avons essayé de respecter une stratification sur le numéro de lactation.

Les animaux sélectionnés ont fait l'objet, à l'échelle de chaque demi-mamelle, d'un suivi bactériologique et cytologique mensuel tout au long des campagnes laitières 1994-1995 et 1996-1997. Pour chacun de ces animaux, nous avons également disposé sur l'ensemble des lactations, des résultats mensuels des comptages de cellules somatiques.

Ce plan d'expérimentation a conduit à un total de 5521 prélèvements de lait de demimamelle dont 5426 ont fait l'objet d'analyses bactériologiques. En effet, certains tubes ont été altérés pendant le transport, d'autres trop pleins ont explosé pendant leur conservation au congélateur, d'autres encore n'ont pas fait l'objet de traitement car les brebis dont ils étaient issus ont été réformées avant la fin des manipulations... Il a également mis en place un total de 5332 CCS de demi-mamelle et un total de 2003 CCS de mamelle.

#### **II.PRELEVEMENTS ET TECHNIQUES ANALYTIQUES**

#### **II.1.LES PRELEVEMENTS**

#### II.1.1.CHRONOLOGIE DES PRELEVEMENTS EN ELEVAGE

#### **AVANT LA TRAITE DU MATIN**

- vérification de l'identification des animaux,
- relevé des mamelles déséquilibrées,
- prélèvements pour CCS individuels (1 par demi-mamelle),
- prélèvements aseptiques pour analyses bactériologiques (1 par demi-mamelle).

#### TRAITE MANUELLE OU MECANIQUE PAR L'ELEVEUR

#### **FIN DE TRAITE**

• prélèvements pour le contrôle laitier (CCS du lait de mélange des 2 demi-mamelles).

#### **APRES LA TRAITE**

• examen clinique des mamelles (sous-traite, mamelles déséquilibrées...).

#### II.1.2.LES PRELEVEMENTS POUR LES CCS

Ils n'ont pas nécessité de mesure d'asepsie particulière. Le premier prélèvement pour comptage cellulaire a eu lieu dès la fin de la phase colostrale, soit en moyenne 48 heures après la mise bas. Les autres ont été réalisés mensuellement pendant toute la campagne le même jour que le contrôle laitier. Le dernier prélèvement a eu lieu immédiatement avant le tarissement de la brebis ou, si les contraintes de terrain l'imposaient, dans la dernière semaine de traite.

#### • A la demi-mamelle

Un échantillon d'environ 50 mL de lait était prélevé, juste avant la traite du matin, dans un flacon non stérile contenant comme conservateur une pastille de bichromate de potassium. Le flacon était ensuite identifié à l'aide d'une étiquette pré imprimée portant le code de l'élevage (les 3 premières lettres du nom de l'éleveur), la date, le numéro de la brebis et le côté prélevé (G/D).

#### A la mamelle

Dans le cadre du contrôle laitier, un échantillon d'environ 50 mL de lait était prélevé en fin de traite du matin dans un flacon non stérile contenant comme conservateur une pastille de bronopol. Le flacon était ensuite identifié à l'aide d'une étiquette fournie par le contrôleur.

#### Conservation et traitement des prélèvements

Ces prélèvements étaient ensuite réfrigérés et conservés à +4°C jusqu'à l'arrivée aux Laboratoires Interprofessionnels d'Analyses Laitières d'Auch (Gers) ou d'Aurillac (Cantal). Leur analyse par ces laboratoires se faisait dans les 48 heures suivant le prélèvement par la méthode optofluoro-électronique à l'aide d'un appareil Fossomatic.

#### II.1.3.LES PRELEVEMENTS POUR LES ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Le premier prélèvement pour analyse bactériologique a eu lieu le plus tôt possible après la mise bas (prélèvement de colostrum ou de lait). Les autres ont été réalisés mensuellement pendant toute la campagne le même jour que le contrôle laitier. Le dernier prélèvement a eu lieu immédiatement avant le tarissement de la brebis ou, si les contraintes de terrain l'imposaient, dans la dernière semaine de traite. Ces prélèvements ont nécessité la présence de 2 opérateurs.

#### • Technique de prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés selon la technique décrite par Bind et al. (1980). Après expulsion des premiers jets, l'extrémité du trayon était désinfectée, par un premier opérateur, avec une compresse imbibée d'alcool à 70° pendant une vingtaine de seconde. Un second opérateur ouvrait ensuite un tube stérile en essayant de ne pas contaminer l'intérieur du bouchon ni l'intérieur du tube en l'inclinant à 45°. Le premier opérateur remplissait alors le tube aux deux tiers. Le second opérateur fermait ensuite le tube qui était identifié par la méthode déjà détaillée. L'opération était répétée pour l'autre demi-mamelle.

#### • Conservation et traitement des prélèvements

Ces échantillons de lait étaient ensuite disposés dans une glacière réfrigérée pour le transport avant d'être congelés à -20°C jusqu'à analyse.

NB : pour les sélections, les examens bactériologiques ont été effectués dans les 24 heures suivant le prélèvement après conservation des échantillons à +4°C.

#### II.2.LES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

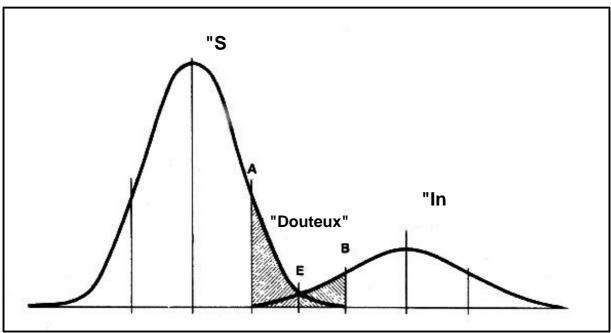
Toutes les analyses microbiologiques ont été réalisées au laboratoire de Pathologie de la Reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Les méthodes utilisées dans la recherche et l'identification des germes présents dans le lait sont des méthodes de routine détaillées dans le document 132 de la Fédération Internationale de Laiterie (Laboratory Methods for Use in Mastitis Work, 1981).

L'isolement a été réalisé par ensemencement de 10 à 20 µL de lait sur gélose au sang de mouton, et incubation pendant 48 heures au moins à 37°C. Un prélèvement a été considéré comme souillé si plus de 2 types de colonies étaient présentes. Une première orientation a été réalisée par coloration de Gram et tests de catalase et oxydase. Des tests complémentaires (coagulase en tube ou sur lame) ont été réalisés pour les staphylocoques. L'identification a été conduite à l'aide de galeries standardisées API System : API 20 ou API 32 pour les staphylocoques, API Strep pour les streptocoques, API 20E pour les entérobactéries et API 20 NE pour les non-entérobactéries.

Un prélèvement a été considéré comme souillé si plus de 2 types de colonies étaient présentes. Un prélèvement a été considéré comme stérile si moins de 5 UFC étaient présentes au terme de l'incubation.

#### **III.METHODES**

#### III.1.DEFINITION DU STATUT INFECTIEUX



Graphique n°2: distribution bimodale d'une variable dans une population d'après M.Jenicek & R.Cléroux (1987).

Le graphique n°2 met en évidence la nécessité de considérer 3 classes d'animaux. En effet, dans une population où la distribution de la variable étudiée est bimodale, c'est le cas des CCI, s'il est possible dans le plus grand nombre de cas de discriminer les animaux « sains » des animaux « infectés », il existe par ailleurs une plage de valeurs prises par cette variable communes à ces 2 sous populations. Il est alors impossible quand la valeur de la variable est comprise dans cette zone de recouvrement de classer l'animal dans l'une ou l'autre des sous populations. Cet état de fait justifie la considération d'une troisième classe regroupant les animaux qualifiés de « douteux ». C'est pourquoi nous avons classé les demi-mamelles et mamelles en « saines », « douteuses » ou « infectées ».

#### III.1.1.DE LA DEMI-MAMELLE

Nous avons construit 6 critères permettant de qualifier le statut infectieux de chaque demimamelle à partir de l'ensemble de ses résultats d'analyses bactériologiques sans tenir compte des résultats de CCS. La définition de ces critères a principalement été fondée sur le nombre d'isolements sur la campagne laitière (fréquence absolue) ainsi que sur la répétition des types bactériens isolés (fréquence relative). Les critères numérotés de 1 à 6 ont été construits selon un ordre décroissant de sévérité. (Cf. Annexe n°2).

Par exemple, le critère n°1 a défini comme « saines » des demi-mamelles ne présentant aucun isolement bactérien, ou présentant un prélèvement contaminé et/ou un prélèvement polybactérien. Il a défini comme « infectées » des demi-mamelles présentant au moins 2 isolements de SCN identiques consécutifs ou non, ou au moins 3 SCN différents consécutifs ou non. Enfin, dans tous les autres cas, les demi-mamelles ont été qualifiées de « douteuses ».

Le critère n°5 a, lui, défini comme « saines » des demi-mamelles ne présentant aucun isolement bactérien, ou présentant plusieurs prélèvements contaminés et/ou polybactériens, ou au maximum 2 SCN identiques consécutifs ou non, ou au maximum 3 SCN différents consécutifs ou non. Il a défini comme « infectées » des demi-mamelles présentant au moins 3 isolements de SCN identiques consécutifs ou non, ou plus de 4 SCN différents consécutifs ou non, ou au moins 2 séries de 2 SCN différents. Enfin, dans tous les autres cas, les demi-mamelles ont été qualifiées de « douteuses ».

#### III.1.2.DE LA MAMELLE ENTIERE

Nous avons défini le statut infectieux des mamelles à partir du statut infectieux des 2 demimamelles les composant. Les combinaisons 2 à 2 des demi-mamelles pour les lesquelles 3 statuts infectieux étaient possibles ont conduit à 5 compositions de mamelles [(1+1), (1+2), (1+3), (2+2) et (3+3)]. Ensuite nous avons réparti ces mamelles dans 3 groupes selon 2 classifications.

La première classification a considéré comme :

- « saine » une brebis dont les 2 demi-mamelles étaient « saines » (1+1),
- « douteuse » une brebis dont au moins une demi-mamelle était douteuse à condition que l'autre ne soit pas « infectée » [(2+1) et (2+2)],
- et « infectée » une brebis dont au moins une demi-mamelle était infectée [(3+1), (3+2) et (3+3)].

La deuxième classification a considéré comme :

- « saine » une brebis dont les 2 demi-mamelles étaient « saines » ou « douteuses » ou encore une « saine » l'autre étant « douteuse » [(1+1), (2+2) et (1+2)],
- « infectée unilatéralement » une brebis dont au moins une demi-mamelle était « infectée » l'autre étant « saine » ou « douteuse » [(3+1) et (3+2)],
  - et « infectée bilatéralement » une brebis dont les 2 demi-mamelles étaient infectées (3+3).

Notons que cette deuxième classification se démarque de la précédente principalement par le fait qu'elle discrimine les mamelles (3+1) et (3+3) présentant respectivement une infection unilatérale et bilatérale, puisque les premières appartiennent à la classe 2 alors que les secondes appartiennent à la classe 3. Ces 2 types de mamelles sont regroupés dans la classe 3 par la première classification.

#### **III.2.METHODES STATISTIQUES**

#### III.2.1.LES STATISTIQUES DESCRIPTIVES

Pour les traitements mathématiques des résultats de CCS, nous avons travaillé avec les moyennes géométriques ou le logarithme en base 10. En effet, le bulletin n°321/1997 de la Fédération Internationale de Laiterie stipule qu'il est possible d'utiliser indifféremment les moyennes arithmétiques des logarithmes ou les moyennes géométriques dans la présentation et la comparaison de résultats de CCS.

#### III.2.2.LES REGLES DE DECISION

Les profils de CCS des demi-mamelles et des mamelles entières ont été analysés par un programme spécifique écrit en langage C dans le but d'établir des règles de décision pour chacun des 6 critères bactériologiques définis.

Des profils incomplets peuvent être pris en compte dans l'établissement des règles de décision. Ces règles ont pour but de prédire le statut infectieux de l'organe considéré (demi-mamelle ou mamelle) à partir des profils de CCS sur la lactation. Ainsi, une demi-mamelle ou une mamelle a été déclarée « saine » si tous ses CCS, sauf x (x prenant les valeurs 0, 1 ou 2), sont inférieurs à un seuil S1 variable (seuil inférieur dont la valeur est comprise entre  $100*10^3$  et  $500*10^3$  ¢/mL), une demi-mamelle ou une mamelle a été déclarée « infectée » si au moins y CCS (avec y  $\geq$  1) sont supérieurs à un seuil S2 variable (seuil supérieur dont la valeur est comprise entre  $600*10^3$  et  $1000*10^3$  ¢/mL), dans tous les autres cas, la demi-mamelle ou la mamelle a été déclarée « douteuse ».

Chaque règle de décision a conduit à la mise en place d'une table de contingence. La pertinence des différentes règles de décision a été établie par la comparaison des résultats de leur table de contingence. (Cf. Tableau n°2).

#### III.2.3.LES TABLES DE CONTINGENCE

#### **PRINCIPE**

La construction des tables de contingence, dans lesquelles on confronte les statuts prévus par les règles de décision et les statuts observés c'est-à-dire définis par les critères donc par les résultats bactériologiques, ont permis de calculer pour chaque règle :

- la valeur globale : VG,
- 3 probabilités conditionnelles : Sensibilité, Spécificité et X1,
- ainsi que 3 valeurs prédictives : VP1, VP2 et VP3,

#### QUELQUES DEFINITIONS ET EXEMPLE GENERAL

- la Valeur Globale (VG) indique la proportion de demi-mamelles ou de mamelles dont le statut infectieux a été convenablement prévu (la prévision est alors égale à l'observation) sur l'ensemble des demi-mamelles ou des mamelles classées.
- la Sensibilité traduit l'aptitude du test à prévoir les demi-mamelles ou les mamelles « infectées » parmi celles qui le sont réellement.
- la Spécificité traduit l'aptitude du test à prévoir les demi-mamelles ou les mamelles « saines » parmi celles qui le sont réellement.

Remarque : sur le graphique n°2, un seuil A indique un test plus sensible que spécifique, un seuil B indique au contraire un test plus spécifique que sensible. Enfin un seuil E donnera à la fois des résultats faux positifs et faux négatifs.

- X traduit l'aptitude du test à prévoir les demi-mamelles ou les mamelles « douteuses » parmi celles qui le sont réellement.
- la Valeur prédictive 1 (VP1) indique la proportion de demi-mamelles ou de mamelles prévues « saines » et observées « saines », parmi l'ensemble des demi-mamelles ou des mamelles prévues « saines ».

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Il n'existe pas de terme pour définir ce paramètre. C'est pourquoi nous le noterons toujours X.

- la Valeur prédictive 2 (VP2) indique la proportion de demi-mamelles ou de mamelles prévues « douteuses » et observées « douteuses », parmi l'ensemble des demi-mamelles ou des mamelles prévues « douteuses ».
- la Valeur prédictive 3 (VP3) indique la proportion de demi-mamelles ou de mamelles prévues « infectées » et observées « infectées », parmi l'ensemble des demi-mamelles ou des mamelles prévues « infectées ».

Pour une meilleure compréhension des définitions ci-dessus, nous nous proposons, dans le tableau n°2, de traiter un exemple général.

Tableau n°2 : définitions statistiques des différents paramètres d'une table de contingence.

			Statuts prévus						
		Saines	Douteuses	Infectées	Total				
Statuts	Saines	а	b	С	a+b+c				
	Douteuses	d	е	f	d+e+f				
Observés	Infectées	g	h	i	g+h+i				
	Total	a+d+g	b+e+h	c+f+i	t				

- t = a+d+g+b+e+h+c+f+i = a+b+c+d+e+f+g+h+i,
- VG = (a+e+i) / t,
- Sensibilité = i / (g+h+i),
- Spécificité = a / (a+b+c),
- X = e / (d+e+f),
- Valeur prédictive 1 (VP1) = a / (a+d+g),
- Valeur prédictive 2 (VP2) = e / (b+e+h),
- Valeur prédictive 3 (VP3) = i / (c+f+i).

Classiquement, un test, dans notre cas une règle de décision, est jugé acceptable si sa valeur globale est supérieure à 80%, et si les valeurs de Spécificité et de Sensibilité sont supérieures à 70 %. En pratique, ces valeurs peuvent être discutées.

## **III.RESULTATS**

#### **I.STATISTIQUES DESCRIPTIVES**

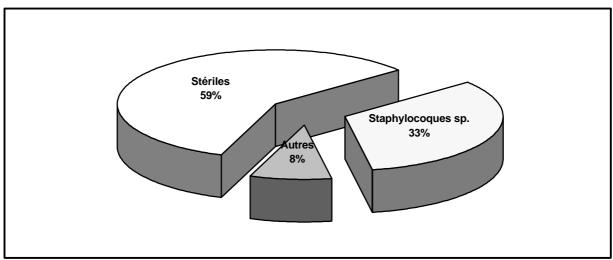
#### I.1. RESULTATS DES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

#### I.1.1. REPARTITION DES ISOLEMENTS EN FONCTION DES ESPECES BACTERIENNES

Tableau n°3 : répartition des isolements en fonction des espèces bactériennes.

Nature de l'isolement	Nombre	%	% par rapport aux isolements		
Stériles	3185	58,70	-		
Staphylocoques sp.	1787	32,93	79,74		
Microcoques sp.	56	1,03	2,50		
Streptocoques sp.	45	0,83	2,01		
Entérobactéries	81	1,49	3,61		
Moisissures	0	0,00	0,00		
Contaminés	27	0,50	1,20		
Polybactériens (+ de 3 espèces)	117	2,16	5,22		
2 types de bactéries	126	2,32	5,62		
Germes non identifiés	2	0,04	0,09		
Totaux	5426	100	100		

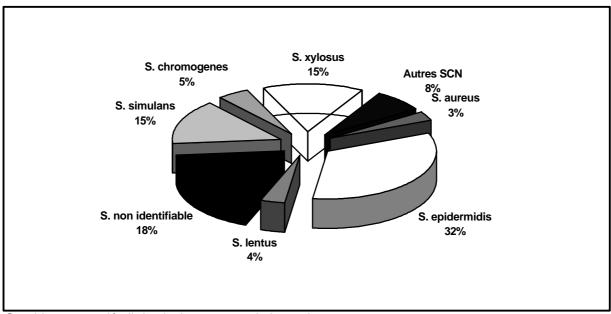
Le tableau n°3 nous indique les parts respectives des différentes espèces bactériennes rencontrées. Notons que les microcoques et les streptocoques sont intervenus dans des proportions similaires, voisines de 2% des isolements. Les entérobactéries ont constitué presque 4% des bactériologies positives. Aucune moisissure n'a été isolée. Les prélèvements contaminés ont représenté moins d'1% des prélèvements quand les prélèvements souillés en ont représenté un peu plus de 2%. Les prélèvements dans lesquels coexistaient deux types bactériens ont constitué presque 6% des isolements.



Graphique n°3 : résultats des 5426 analyses bactériologiques.

Le graphique n°3 présente de façon plus synthétique les résultats des analyses bactériologiques. Deux faits essentiels sont à noter. Le premier réside dans la forte proportion d'échantillons de lait stériles avec près de 60% des prélèvements, le deuxième dans la prédominance des staphylocoques avec près de 33% des prélèvements et presque 80% des isolements. En conséquence seuls 8% des prélèvements ont abouti à un résultat n'appartenant pas aux 2 classes déjà mentionnées.

#### I.1.2.DECOUPAGE DES ISOLEMENTS STAPHYLOCOCCIQUES



Graphique n°4: détail des isolements staphylococciques.

Il est aisé de constater, à la lecture du graphique n°4, la nette prédominance de *Staphylococcus epidermidis* qui représente près d'un tiers des isolements staphylococciques (32%). Deux autres espèces semblent également jouer un rôle important, ce sont *Staphylococcus simulans* et *Staphylococcus xylosus* qui ont été mis en évidence dans 15% des isolements staphylococciques. *Staphylococcus chromogenes* et *Staphylococcus lentus* sont également représentés, et ont participé à hauteur de 4 ou 5% aux isolements staphylococciques. Remarquons que pour 18% des staphylocoques isolés l'identification n'a pu aboutir. Notons aussi la faible contribution de *Staphylococcus aureus* dans les mammites subcliniques chez la brebis laitière. Dans notre étude la part relative de ce germe est inférieure à 3%.

#### I.1.3.IMPORTANCE DES DIFFERENTS PATHOGENES MAJEURS

Tableau n°4: importance des différents germes qualifiés de « pathogènes majeurs ».

Pathogènes majeurs	Nombre	% par rapport aux isolements	% relatifs
Staphylococcus aureus	50	2,23	67,57
Streptococcus agalactie	1	0,04	1,35
Streptococcus uberis	0	0,00	0,00
Escherichia coli	16	0,71	21,62
Pseudomonas aeruginosa	0	0,00	0,00
Pasteurella haemolytica	1	0,04	1,35
Pasteurella multocida	0	0,00	0,00
Arcanobacterium pyogenes	6	0,27	8,11
Total	74	3,30	100,00

Le tableau n°3 nous rappelle que les pathogènes majeurs ont représenté 3,3% des isolements dans notre étude chez la brebis laitière. Les 3 germes les plus fréquemment rencontrés ont été, *Escherichia coli* et *Arcanobacterium pyogenes*. Celui dont la part relative a été la plus importante reste *Staphylococcus aureus* avec près de 68% des isolements de pathogènes majeurs. *Escherichia coli* et *Arcanobacterium pyogenes* ont respectivement été responsables de 22 et 8% des isolements de pathogènes majeurs. *Streptococcus uberis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Pasteurella multocida* n'ont jamais été isolés. *Streptococcus agalactie* et *Pasteurella haemolytica* ont été isolés une seule fois dans toute notre étude.

#### I.1.4. DETAIL DES ISOLEMENTS PRESENTANT UN COUPLE BACTERIEN

Ils représentent 5,62% des isolements.

Tableau n°5 : détail des isolements présentant un couple bactérien.

Genres bactériens	Nombre	%
Staphylocoques sp.	192	76,10
Streptocoques sp.	27	10,71
Entérobactéries	18	7,14
Microcoques sp.	15	5,95
Moisissures	0	0,00
Total	252	100

Le tableau n°5 affiche que les staphylocoques interviennent pour plus de 76% dans la composition des couples bactériens isolés. Les autres genres bactériens ont également été mis en évidence mais dans des proportions biens moins importantes. C'est ainsi que la part relative des streptocoques est de 11%, celle des entérobactéries de 7% et celle des microcoques de 6%.

#### I.1.5. DETAIL DES COUPLES BACTERIENS

Tableau n°6 : détail des couples bactériens.

Couples bactériens	Nombre	%
Staphylocoque / Staphylocoque	69	54,76
Staphylocoque / Streptocoque	24	19,05
Staphylocoque / Entérobactérie	17	13,49
Staphylocoque / Microcoque	13	10,32
Microcoque / Entérobactérie	1	0,79
Microcoque / Streptocoque	1	0,79
Streptocoque / Entérobactérie	1	0,79
Streptocoque / Streptocoque	0	0,00
Total	126	100,00

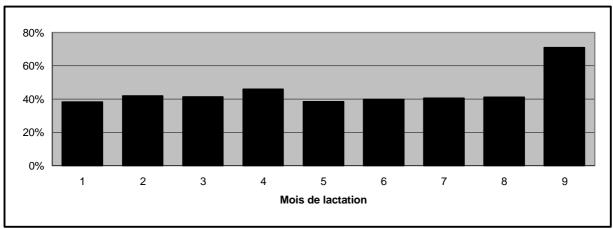
Le tableau n°6 nous dévoile que près de 55% des couples bactériens sont représentés par un couple de staphylocoques. Par ailleurs, nous apprenons aussi que ces mêmes staphylocoques coexistent avec tous les autres genres bactériens isolés, dans 19% des couples avec un streptocoque, dans 13% des couples avec une entérobactérie et dans 10% des couples avec un microcoque. Ceci conduit à la constatation que près de 98% des couples bactériens sont composés au moins pour moitié par un staphylocoque.

#### I.1.6.POURCENTAGE D'ISOLEMENTS SUR LA CAMPAGNE

Tableau n°7 : prévalence moyenne mensuelle à la demi-mamelle.

Mois	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Prélèvements	713	713	713	712	695	687	679	519	90
Stériles	435	408	415	383	424	409	399	294	18
Analyses non faites	8	10	6	4	6	7	7	19	28
Isolements	270	295	292	325	265	271	273	206	44
% isolements	38,30	41,96	41,30	45,90	38,46	39,85	40,63	41,20	70,97

Le tableau n°7 précise que le nombre de prélèvements a été constant pendant les 7 premiers mois de la campagne moyenne. Il a oscillé entre 713 et 679 avant de chuter à 519 pour le 8<sup>ème</sup> mois et à 90 pour le dernier mois. Parallèlement le nombre d'analyses non réalisées pour ces deux derniers mois de la campagne s'est élevé respectivement à 19 et 28 alors qu'il était toujours inférieur ou égal à 10 sur le début de la campagne. Constatons dès lors que pour le 9<sup>ème</sup> mois, près d'un tiers des prélèvements n'ont pas été analysés et que les résultats bactériologiques pour ce mois-là sont issus de l'analyse de 62 échantillons de lait contre plus de 500 pour les autres mois.



Graphique n°5: pourcentages mensuels d'isolements à lademi-mamelle.

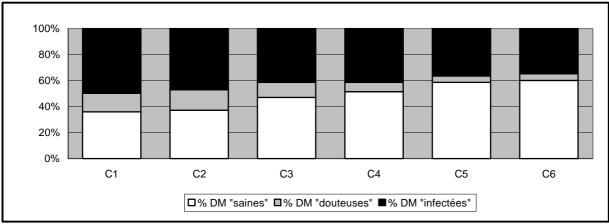
Le graphique n°5 nous enseigne que le pourcentage d'isolements a été très constant sur l'ensemble de la campagne moyenne des campagnes 1993-1994 et 1996-1997. La valeur de la prévalence mensuelle a avoisiné les 40% à l'exception toutefois du dernier mois de lactation où elle a atteint la valeur de 70%.

#### I.1.7. CLASSIFICATION DES DEMI-MAMELLES

Tableau n°8 : classement des 709 demi-mamelles selon les 6 critères.

Classes de demi mamelles	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Demi mamelles « saines »	255	264	334	365	416	426
Demi mamelles « douteuses »	102	112	82	51	34	36
Demi mamelles « infectées »	352	333	293	293	259	247
% Demi mamelles « saines »	35,97	37,24	47,11	51,48	58,67	60,08
% Demi mamelles « douteuses »	14,39	15,80	11,57	7,19	4,80	5,08
% Demi mamelles « infectées »	49,65	46,97	41,33	41,33	36,53	34,84

Le tableau n°8 donne la répartition des demi-mamelles dans les 3 classes après avoir confronté les résultats bactériologiques de leurs échantillons de lait à la grille de définition des 6 critères bactériologiques. Par construction, le nombre de demi-mamelles « saines » n'a cessé de croître de C1 à C6 passant de 255 à 426, alors que celui dedemi-mamelles « infectées » n'a cessé de diminuer passant de 352 à 247. Notons que pour C4, C5 et C6 le nombre de demi-mamelles qualifiées de « douteuses » est faible.



Graphique n°6 : classement des 709 demi-mamelles par les 6 critères bactériologiques.

D'après le graphique n°6, la proportion de demi mamelles « saines » varie de +25% passant de 36% pour C1 à 60% pour C6. De même celle de demi mamelles «infectées » varie de -15% passant de 50% à 35% de C1 à C6. Enfin, la proportion de demi mamelles «douteuses » est toujours faible quelque soit le critère observé et reste comprise entre 5 et 14%.

#### I.1.8. CLASSIFICATION DES MAMELLES

#### • PAR LA CLASSIFICATION N°1

Cette classification découpe les mamelles en « saines », « douteuses » et « infectées ».

Tableau n°9: classement des 346 mamelles selon la classification n°1.

Classes de mamelles	C1	C2	C3	C4	<b>C</b> 5	C6
Mamelles « saines »	67	71	106	117	140	143
Mamelles « douteuses »	47	52	34	23	17	20
Mamelles « infectées »	232	223	206	206	189	183
% Mamelles « saines »	19,36	20,52	30,64	33,82	40,46	41,33
% Mamelles « douteuses »	13,58	15,03	9,83	6,65	4,91	5,78
% Mamelles « infectées »	67,05	64,45	59,54	59,54	54,62	52,89

Le tableau n°9 donne la répartition des mamelles dans les classes de « saines », « douteuses » et « infectées » après avoir confronté les statuts infectieux des demi-mamelles les composant aux définitions de la classification n°1. Encore une fois, par construction, le nombre de mamelles « saines » n'a cessé de croître de C1 à C6 passant de 67 à 143, alors que celui de mamelles « infectées » n'a cessé de diminuer passant de 232 à 183. Notons que pour C4, C5 et C6 le nombre de mamelles qualifiées de « douteuses » reste faible.



Graphique n°7: classement des 346 mamelles selon la classification n°1.

D'après le graphique n°7, la proportion de mamelles « saines » varie de +22% passant de 19% pour C1 à 41% pour C6. De même celle de mamelles «infectées » varie de -14% passant de 67% à 53% de C1 à C6. Enfin, la proportion de mamelles «douteuses » est toujours faible quelque soit le critère observé et reste comprise entre 5 et 14%.

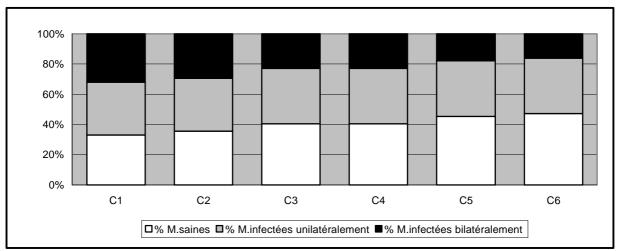
#### PAR LA CLASSIFICATION N°2

Cette classification découpe les mamelles en « saines », « infectées uni et bilatéralement ».

Tableau n°10: classement des 346 mamelles selon la classification n°2.

Classes de mamelles	C1	C2	C3	C4	<b>C</b> 5	C6
M. « saines »	114	123	140	140	157	163
M. « infectées unilatéralement »	121	121	127	127	127	127
M. « infectées bilatéralement »	111	102	79	79	62	56
% M. « saines »	32,95	35,55	40,46	40,46	45,38	47,11
% M. « infectées unilatéralement »	34,97	34,97	36,71	36,71	36,71	36,71
% M. « infectées bilatéralement »	32,08	29,48	22,83	22,83	17,92	16,18

Le tableau n°10 donne la répartition des mamelles dans les classes de « saines », « infectées unilatéralement » et « infectées bilatéralement » après avoir confronté les statuts infectieux des demi-mamelles les composant aux définitions de la classification n°2. Une fois encore, par construction, le nombre de mamelles « saines » n'a cessé de croître de C1 à C6 passant de 114 à 163, alors que celui de mamelles « infectées bilatéralement » n'a cessé de diminuer passant de 111 à 56. Notons que le nombre de mamelles « infectées unilatéralement » est resté très constant et compris entre 121 et 127 de C1 à C6.



Graphique n°8 : classement des 346 mamelles selon la classification n°2.

D'après le graphique n°8, la proportion de mamelles « saines » varie de +14% passant de 33% pour C1 à 47% pour C6. De même celle de mamelles «infectées bilatéralement » varie de -16% passant de 32% à 16% de C1 à C6. Enfin, la proportion de mamelles «infectées unilatéralement » est très constante et comprise entre 35 et 37% de C1 à C6.

#### **I.2.LES COMPTAGES CELLULAIRES**

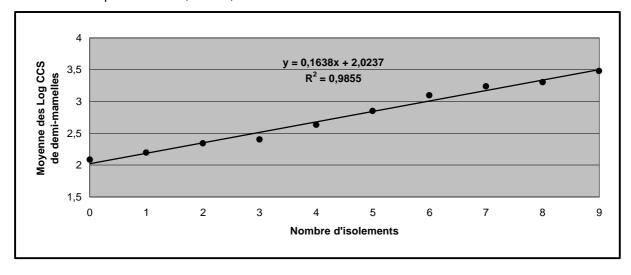
I.2.1.RELATION ENTRE LE NOMBRE D'ISOLEMENTS PAR DEMI-MAMELLE ET LA MOYENNE DES LOG DES CCS DE DEMI-MAMELLES

Tableau n11: nombre d'isolements par demi-mamelle et moyenne des Log de leurs CCS.

Nombre d'isolements sur la campagne	Nombre de demi-mamelles	Moyenne des Log de CCS	Pas d'incrémentation	Ecart-type
0	265	2,08	-	0,58
1	70	2,19	+ 0,11	0,63
2	45	2,34	+ 0,15	0,76
3	58	2,40	+ 0,06	0,81
4	49	2,63	+ 0,23	0,79
5	37	2,85	+ 0,22	0,91
6	36	3,09	+ 0,24	0,71
7	56	3,24	+ 0,15	0,69
8	89	3,30	+ 0,06	0,58
9	7	3,48	+ 0,18	0,42

Le tableau n°11 nous enseigne que la majorité des demi-mamelles, 265 sur 712 demi-mamelles suivies, n'ont présenté aucun isolement sur l'ensemble de la campagne. Ensuite la répartition des demi-mamelles est plus homogène quelque soit le nombre d'isolements sur la campagne. Notons quand même que 70 d'entre-elles ont présenté un seul isolement et 89 en ont fourni huit. Le nombre de demi-mamelles ayant présenté de 2 à 7 isolements a oscillé entre 36 et 58. Pour finir seules sept demi-mamelles ont affiché neuf isolements.

Il est également possible de constater que la moyenne des Log de CCS n'a cessé d'augmenter parallèlement à l'augmentation du nombre d'isolements. Les valeurs des écart-types sont élevées et comprises entre 0,42 et 0,91.

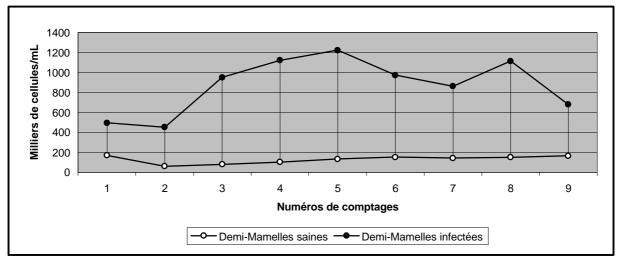


Graphique n°9 : relation entre le nombre d'isolements par demi-mamelle sur la campagne et la moyenne des logarithmes de leurs CCS.

Le graphique n°9 expose la corrélation linéaire qui existe entre le nombre d'isolements sur les échantillons de laits issus des demi-mamelles et la moyenne des logarithmes de leurs CCS. Le coefficient de détermination est égal à 0,9855.

#### I.2.2. CINETIQUE DES CCS DES DEMI-MAMELLES CLASSEES SAINES ET INFECTEES PAR

#### LE CRITERE N°4



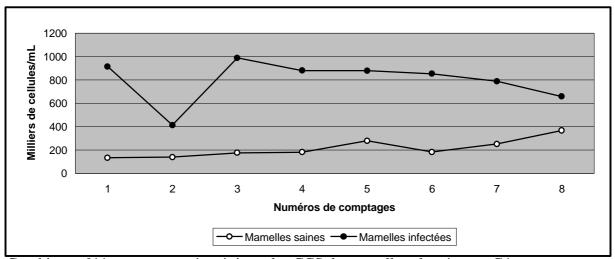
Graphique n°10 : moyenne géométrique des CCS des demi-mamelles classées par C4.

Les valeurs des moyennes géométriques mensuelles des CCS des demi-mamelles « saines » ont varié de 50 à  $200*10^3$  ¢/mL (graphique n°10). Ces valeurs ont chuté dès le deuxième comptage pour atteindre leur valeur la plus faible de  $50*10^3$  ¢/mL et sont montées ensuite graduellement pour atteindre la valeur de  $200*10^3$  ¢/mL au sixième comptage et se sont stabilisées autour de cette valeur jusqu'à la fin de la campagne laitière.

Le même graphique nous indique que les valeurs des moyennes géométriques mensuelles des CCS des demi-mamelles « infectées » ont oscillé entre 500 et 1200\*10³ ¢/mL. Ces valeurs se sont maintenues autour de leur valeur la plus basse de 500\*10³ ¢/mL pendant les deux premiers mois de lactation pour monter régulièrement ensuite du troisième au cinquième comptage et atteindre leur valeur la plus haute de 1200\*10³ ¢/mL. Sur le reste de la campagne, les valeurs de CCS se sont stabilisées autour de la valeur de 1000\*10³ ¢/mL avant d'atteindre la valeur de 700\*10³ ¢/mL pour le dernier comptage.

#### $\textbf{I.2.3.C} \textbf{INETIQUE DES CCS} \ \textbf{DES MAMELLES CLASSEES SAINES ET INFECTEES PAR LE}$

#### **CRITERE N°4**



Graphique n°11 : moyenne géométrique des CCS de mamelles classées par C4.

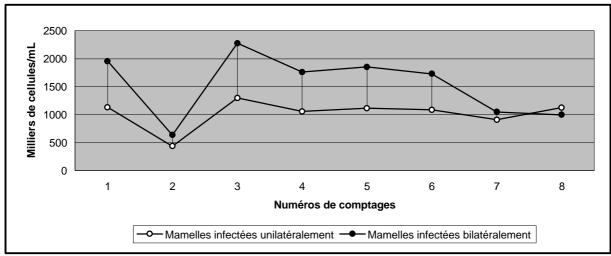
Les valeurs des moyennes géométriques mensuelles des CCS des mamelles « saines », ont varié de 100 à 400\*10<sup>3</sup> ¢/mL (graphique n°11). Ces valeurs se sont maintenues entre 100 et 200\*10<sup>3</sup> ¢/mL pendant les quatre premiers mois de lactation. Le cinquième comptage ainsi que les 2 derniers

de la campagne sont marqués par une légère hausse des comptages cellulaires qui ont atteint la valeur de 400\*10<sup>3</sup> ¢/mL.

Le même graphique nous indique que les valeurs des moyennes géométriques mensuelles des CCS des mamelles « infectées », ont oscillé entre 400 et 1100\*10³ ¢/mL. La première valeur de comptage est élevée puisque avoisinant les 1000\*10³ ¢/mL. Le deuxième comptage est à peine supérieur à 400\*10³ ¢/mL. Par la suite les valeurs de CCS ne vont cesser de décroître depuis le troisième comptage dont la valeur est de 1000\*10³ ¢/mL jusqu'au dernier dont la valeur est d'environ 700\*10³ ¢/mL.

**CRITERE N°6** 

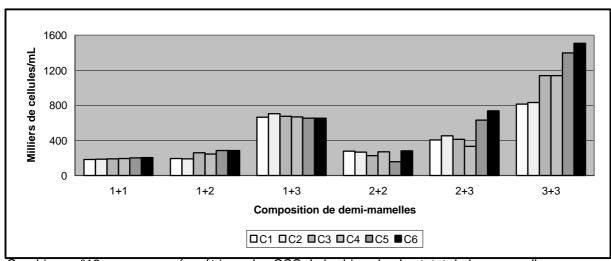
#### I.2.4.CINETIQUE DES CCS DES MAMELLES INFECTEES UNI OU BILATERALEMENT PAR LE



Graphique n°12 : Moyenne géométrique des CCS des mamelles « infectées uni ou bilatéralement ».

Le graphique n°12 montre, qu'en termes de variations des CCS durant la campagne, les mamelles « infectées unilatéralement et bilatéralement», présentent des évolutions comparables. En effet, à l'exception des comptages n°2, 7 et 8, où les courbes se rejoignent autour des valeurs de 500\*10³ et 1000\*10³ ¢/mL, nous pouvons observer que les moyennes géométriques des CCS des mamelles « infectées bilatéralement » ont pris des valeurs proches de 2000\*10³ ¢/mL sur le reste de la campagne laitière pendant que les moyennes géométriques des CCS des mamelles « infectées unilatéralement » ont pris des valeurs proches de 1000\*10³ ¢/mL.

#### 1.2.5.MOYENNE GEOMETRIQUE DES CCS DE BREBIS ET STATUT DE LEUR MAMELLE



Graphique n°13 : moyenne géométrique des CCS de brebis selon le statut de leur mamelle.

L'analyse du graphique n°13 souligne l'éventualité de séparer, et ce quelque soit le critère observé, les brebis en 3 groupes en fonction des moyennes géométriques de leurs CCI sur la campagne. Cette discrimination semble optimale pour les critères n°4 et 5. Le premier groupe serait composé des mamelles suivantes : 1+1, 1+2, 2+2, le second par les mamelles 1+3 et 2+3, le dernier par les mamelles composées de 2 demi-mamelles infectées soit les mamelles 3+3. La moyenne géométrique des CCS des mamelles du premier groupe dites « saines » par la classification n°2 est comprise entre 200\*10³ et 300\*10³ ¢/mL, la moyenne géométrique des CCS des mamelles du second groupe dites « infectées unilatéralement » est comprise entre 600\*10³ et 800\*10³ ¢/mL, enfin, la moyenne géométrique des CCS des mamelles du troisième groupe dites « infectées bilatéralement » est comprise entre 1400\*10³ et 1600\*10³ ¢/mL.

#### II.RESULTATS DES REGLES DE DECISION

#### II.1.REGLES DE DECISION POUR LES DEMI-MAMELLES

Nous n'avons retenu dans les tableaux ci-après que les règles de décision fournissant les meilleures valeurs de VG, de sensibilité et de spécificité. Nous présenterons d'abord les résultats obtenus en utilisant toutes les valeurs de CCS et, ensuite, en ne prenant pas en compte la première valeur de CCS (correspondant aux prélèvements réalisés durant la phase d'allaitement traite).

#### II.1.1.EN UTILISANT TOUTES LES VALEURS DE CCS

Tableau n°12 : performances et seuils des meilleures règles de décision.

Critères	Seuil	Seuil	(v v)	VG	Sensibilité	Spécificité	Х	VP1	VP2	VP3
Criteres	inférieur	supérieur	(x,y)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
C1	400000	1200000	(2,1)	65,0	84,5	62,4	4,9	60,5	20,0	70,5
C1	500000	1200000	(1,1)	65,2	84,5	61,2	8,7	61,9	25,0	70,5
C1	500000	900000	(2,1)	65,3	87,0	60,4	2,9	62,4	50,0	67,1
C1	500000	1000000	(2,1)	65,0	85,9	61,2	2,9	60,9	42,9	67,7
C1	500000	1100000	(2,1)	65,5	85,3	62,8	3,9	60,4	33,3	69,4
C1	500000	1200000	(2,1)	65,7	84,5	64,7	3,9	60,7	25,0	70,5
C3	500000	1200000	(2,1)	66,0	88,8	61,5	2,4	75,7	12,5	61,8
C3	500000	1200000	(2,2)	65,3	81,0	61,5	24,4	75,7	14,4	79,4
C4	500000	1200000	(2,1)	68,3	88,8	60,9	2,0	82,0	6,3	61,8
C4	500000	1200000	(2,2)	67,0	81,0	60,9	29,4	82,0	10,8	79,4

La lecture du tableau n°12 nous précise que la meilleure valeur de VG est de 68,3%. Les valeurs des sensibilités sont élevées car toujours supérieures à 80% et les valeurs des spécificités restent supérieures à 60%. Par contre toutes les valeurs de X et VP2 sont faibles. A l'opposé, nous avons obtenu des valeurs de VP1 et VP3 comprises entre 60 et 82%.

La règle de décision optimale à la demi mamelle a donné au seuil inférieur la valeur de 500\*10³ ¢/mL, avec 2 dépassements autorisés à une demi mamelle pour figurer dans la classe des demi mamelles « saines », et au seuil supérieur la valeur de 1200\*10³ ¢/mL, avec un seul dépassement nécessaire pour classer une demi mamelle dans les « infectées ».

#### II.1.2. SANS PRENDRE EN COMPTE LE PREMIER CCS

Tableau n°13 : performances et seuils des meilleures règles de décision.

	Seuil	Seuil		VG	Sensibilité	Spécificité	Х	VP1	VP2	VP3
Critères	inférieur	supérieur	(x,y)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
C4	400000	1100000	(2,1)	71,1	87,8	67,2	2,0	81,7	4,8	66,4
C4	400000	1200000	(2,1)	71,1	86,8	68,0	2,0	81,1	3,9	67,6
C4	500000	900000	(2,1)	71,1	89,2	66,4	0,0	83,2	0,0	63,7
C4	500000	1000000	(2,1)	71,2	88,1	67,5	0,0	82,1	0,0	64,7
C4	500000	1100000	(2,1)	71,8	87,8	68,9	0,0	81,8	0,0	66,4
C4	500000	1200000	(2,1)	71,9	86,8	70,0	0,0	81,3	0,0	67,6
C5	400000	1200000	(2,1)	71,1	90,4	64,8	0,0	88,0	0,0	62,3
C5	500000	1000000	(2,1)	71,2	92,0	64,0	0,0	88,7	0,0	59,7
C5	500000	1100000	(2,1)	71,9	91,6	65,5	0,0	88,6	0,0	61,3
C5	500000	1200000	(2,1)	72,2	90,4	66,7	0,0	88,3	0,0	62,3
C6	500000	1100000	(2,1)	71,5	92,8	65,1	0,0	90,3	0,0	59,2
C6	500000	120000	(2,1)	71,8	91,6	66,3	0,0	89,8	0,0	60,2

La lecture du tableau n°13 nous précise que la meilleure valeur de VG est de 72,2%. Les valeurs des sensibilités sont élevées car toujours supérieures à 85% et les valeurs des spécificités sont supérieures à 65%. Par contre toutes les valeurs de X et VP2 sont extrêmement faibles. A l'opposé, nous avons obtenu des valeurs de VP1 et VP3 comprises entre 59 et 90%.

La règle de décision optimale à la demi mamelle a donné au seuil inférieur la valeur de 500\*10³ ¢/mL, avec 2 dépassements autorisés à une demi mamelle pour figurer dans la classe des demi mamelles « saines », et au seuil supérieur la valeur de 1200\*10³ ¢/mL, avec un seul dépassement nécessaire pour classer une demi mamelle dans les « infectées ».

### II.2. REGLES DE DECISION POUR LES MAMELLES: CLASSIFICATION N°1

Nous n'avons retenu dans les tableaux ci-après que les règles de décision fournissant les meilleures valeurs de VG, de sensibilité et de spécificité. Nous présenterons d'abord les résultats obtenus en utilisant toutes les valeurs mensuelles de CCS pris chronologiquement, ensuite, les résultats obtenus après avoir ramené les lactations à l'origine et, enfin, en n'utilisant qu'une partie des CCS.

#### II.2.1.EN UTILISANT TOUTES LES VALEURS DE CCS

Tableau n°14 : performances et seuils des meilleures règles de décision.

Critères	Seuil inférieur	Seuil supérieur	(x,y)	VG (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	X (%)	VP1 (%)	VP2 (%)	VP3 (%)
C4	500000	1000000	(2,1)	72,5	85,9	62,4	4,3	68,9	11,1	76,6
C4	500000	1100000	(2,1)	72,5	84,0	65,8	4,3	68,1	10,0	77,6
C4	500000	1200000	(2,1)	72,5	83,5	66,7	4,3	67,8	8,3	78,5
C5	500000	1100000	(2,1)	73,7	88,4	62,1	5,9	77,0	10,0	74,9
C5	500000	1200000	(2,1)	73,7	87,8	62,9	5,9	76,5	8,3	75,8
C6	500000	1100000	(2,1)	72,8	89,1	61,5	5,0	77,9	10,0	73,1
C6	500000	1200000	(2,1)	72,8	88,5	62,2	5,0	77,4	8,3	74,0

La lecture du tableau n°14 nous précise que la meilleure valeur de VG est de 73,7%. Les valeurs des sensibilités sont élevées car toujours supérieures à 83% et les valeurs des spécificités sont supérieures à 61%. Par contre toutes les valeurs de X et VP2 sont extrêmement faibles. A l'opposé, nous avons obtenu des valeurs de VP1 et VP3 comprises entre 67 et 78%.

Les règles de décision optimales à la mamelle ont donné au seuil inférieur la valeur unique de 500\*10³ ¢/mL, avec 2 dépassements autorisés à une mamelle pour figurer dans la classe des mamelles « saines », et au seuil supérieur les valeurs de 1100 et 1200\*10³ ¢/mL, avec un seul dépassement nécessaire pour classer une mamelle dans les « infectées ».

### II.2.2.EN UTILISANT TOUS LES CCS APRES LES AVOIR RAMENES A L'ORIGINE

Tableau n°15 : performances et seuils des meilleures règles de décision.

Critères	Seuil inférieur	Seuil supérieur	(x,y)	VG (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	X (%)	VP1 (%)	VP2 (%)	VP3 (%)
C4	500000	1000000	(2,1)	72,8	85,9	63,2	4,3	69,2	11.1	77,0
C4	500000	1100000	(2,1)	72,8	84,0	66,7	4,3	68,4	10,0	77,9
C4	500000	1200000	(2,1)	72,8	83,5	67,5	4,3	68,1	8,3	78,9
C5	400000	1000000	(2,1)	72,5	89,9	57,1	5,9	80,8	5,9	73,9
C5	400000	1100000	(2,1)	72,5	88,4	59,3	5,9	79,0	5,3	75,2
C5	500000	1000000	(2,1)	73,7	89,9	60,0	5,9	78,5	11,1	73,9
C5	500000	1100000	(2,1)	74,0	88,4	62,9	5,9	77,2	10,0	75,2
C5	500000	1200000	(2,1)	74,0	87,8	63,6	5,9	76,7	8,3	76,1
C6	500000	1000000	(2,1)	72,8	90,7	59,4	5,0	79,4	11,1	72,2
C6	500000	1100000	(2,1)	73,1	89,1	62,2	5,0	78,1	10,0	73,4
C6	500000	1200000	(2,1)	73,1	88,5	62,9	5,0	77,6	8,3	74,3

La lecture du tableau n°15 nous précise que la meilleure valeur de VG est de 74,0%. Les valeurs des sensibilités sont élevées car toujours supérieures à 84% et les valeurs des spécificités sont supérieures à 57%. Par contre toutes les valeurs de X et VP2 sont extrêmement faibles. A l'opposé, nous avons obtenu des valeurs de VP1 et VP3 comprises entre 68 et 80%.

Les règles de décision optimales à la mamelle ont donné au seuil inférieur la valeur de 500\*10³ ¢/mL, avec 2 dépassements autorisés à une mamelle pour figurer dans la classe des mamelles « saines », et au seuil supérieur les valeurs de 1100 et 1200\*10³ ¢/mL, avec un seul dépassement nécessaire pour classer une mamelle dans les « infectées ».

### II.2.3.EN N'UTILISANT QUE CERTAINES VALEURS DE CCS

Tableau n°16 : performances et seuils des meilleures règles de décision.

Critères	Nb CCS	N°CCS	(S.inf,S.sup)	(x,y)	VG (%)	Sens (%)	Spé (%)	X (%)	VP1 (%)	VP2 (%)	VP3 (%)
C5	4	2 2 4 ot 7	(400,1000)*10 <sup>3</sup>	(2,1)					75,2		80,6
	4	2,3,4 et 7	· , ,	(Z, I)	77,7	85,7	75,7	5,9		25,0	
C5	4	2,3,4 et 7	(500,1000)*10 <sup>3</sup>	(2,1)	78,0	85,7	76,4	5,9	75,4	33,3	80,6
C5	4	2,3,4 et 8	$(300,1000)*10^3$	(2,1)	77,2	82,5	78,6	5,9	73,8	12,5	82,5
C5	4	2,3,4 et 8	$(400,1000)*10^3$	(2,1)	77,7	82,5	80,0	5,9	73,2	25,0	82,5
C5	4	2,3,4 et 8	(500,1000)*10 <sup>3</sup>	(2,1)	77,7	82,5	80,0	5,9	73,2	25,0	82,5
C5	5	2,3,4,7et 8	(500,1000)*10 <sup>3</sup>	(2,1)	78,0	86,2	75,7	5,9	75,7	25,0	80,7
C6	4	2,3,4 et 7	$(500,1000)*10^3$	(2,1)	77,2	86,3	75,5	5,0	76,1	33,3	78,6
C6	4	2,3,4 et 8	$(400,1000)*10^3$	(2,1)	77,2	83,6	79,0	5,0	73,9	25,0	81,0
C6	4	2,3,4 et 8	$(500,1000)*10^3$	(2,1)	77,2	83,6	79,0	5,0	73,9	25,0	81,0

La lecture du tableau n°16 nous précise que la meilleure valeur de VG est de 78,0%. Les valeurs des sensibilités sont élevées car toujours supérieures à 82% et les valeurs des spécificités sont supérieures à 75%. Par contre toutes les valeurs de X et VP2 sont très faibles. A l'opposé, nous avons obtenu des valeurs de VP1 et VP3 comprises entre 73 et 83%.

Les règles de décision optimales à la mamelle, en considérant 4 et 5 temps, ont donné au seuil inférieur la valeur de 500\*10<sup>3</sup> ¢/mL, avec 2 dépassements autorisés à une mamelle pour figurer dans la classe des mamelles « saines », et au seuil supérieur la valeur de 1000.10<sup>3</sup> ¢/mL, avec un seul dépassement nécessaire pour classer une mamelle dans les « infectées ».

### II.3. REGLES DE DECISION POUR LES MAMELLES: CLASSIFICATION N°2

Nous n'avons retenu dans les tableaux ci-après que les règles de décision fournissant les meilleures valeurs de VG, de sensibilité et de spécificité. Nous présenterons d'abord les résultats obtenus en utilisant toutes les valeurs mensuelles de CCS pris chronologiquement, ensuite, les résultats obtenus après avoir ramené les lactations à l'origine et, enfin, en n'utilisant qu'une partie des CCS.

#### II.3.1.EN UTILISANT TOUTES LES VALEURS DE CCS

Tableau n°17 : performances et seuils des meilleures règles de décision.

Critères	Seuil inférieur	Seuil supérieur	(x,y)	VG (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	X (%)	VP1 (%)	VP2 (%)	VP3 (%)
C5	500000	1200000	(2,3)	72,5	60,1	64,5	62,4	55,1	85,2	48,6
C6	500000	1200000	(2,3)	72,5	60,1	67,9	61,3	55,1	87,0	48,6
C6	500000	1100000	(2,4)	72,5	62,7	62,5	60,7	65,4	87,6	50,6
C6	500000	1000000	(2,4)	73,7	61,0	62,5	57,7	64,6	88,7	48,8
C6	400000	1100000	(2,4)	73,7	61,8	62,5	57,1	67,7	89,4	49,7
C6	500000	1100000	(1,4)	72,8	61,0	62,5	54,6	68,5	89,9	48,9
C6	400000	1000000	(2,4)	72,8	60,4	62,5	54,6	66,9	90,8	48,3

La lecture du tableau n°17 nous précise que la meilleure valeur de VG est de 73,7%. Les valeurs des sensibilités sont élevées car toujours supérieures à 60% et les valeurs des spécificités sont supérieures à 62%. Les valeurs de VP2 sont élevées, par contre toutes les valeurs de VP3 sont faibles. A l'opposé, nous avons obtenu des valeurs de X et VP1 comprises entre 54 et 69%.

Les règles de décision optimales à la mamelle ont donné au seuil inférieur les valeurs de 400 et 500\*10³ ¢/mL, avec 2 dépassements autorisés à une mamelle pour figurer dans la classe des mamelles « saines », et au seuil supérieur les valeurs de 1000 et 1100\*10³ ¢/mL, avec 4 dépassements nécessaires pour classer une mamelle dans les « infectées bilatérales ».

### II.3.2.EN UTILISANT TOUS LES CCS APRES LES AVOIR RAMENES A L'ORIGINE

Tableau n°18 : performances et seuils des meilleures règles de décision.

Critères	Seuil inférieur	Seuil supérieur	(x,y) VG Sensibilité Sp (%) (%)		Spécificité (%)	X (%)	VP1 (%)	VP2 (%)	VP3 (%)	
C5	500000	1100000	(2,6)	63,6	21,0	62,4	85,8	86,0	50,7	76,5
C6	400000	1100000	(2,6)	63,6	23,2	57,7	89,0	89,5	50,4	76,5
C6	500000	1000000	(2,6)	63,9	28,6	58,3	86,6	88,8	50,7	72,7
C6	500000	1100000	(2,6)	64,5	23,2	61,3	86,6	87,7	51,2	76,5
C6	500000	1200000	(2,6)	64,2	17,9	62,0	87,4	87,1	50,9	83,3

La lecture du tableau n°18 nous précise que la meilleure valeur de VG est de 64,5%. Les valeurs des sensibilités sont faibles car toujours inférieures à 29% et les valeurs des spécificités sont supérieures à 57%. Les valeurs de VP2 sont faibles, par contre toutes les valeurs de X, VP1 et VP3 sont élevées.

La règle de décision optimale à la mamelle a donné au seuil inférieur la valeur de  $500*10^{\circ}$  ¢/mL, avec 2 dépassements autorisés à une mamelle pour figurer dans la classe des mamelles « saines », et au seuil supérieur la valeur de  $1100*10^{3}$  ¢/mL, avec 6 dépassements nécessaires pour classer une mamelle dans les « infectées bilatérales ».

#### II.3.3.EN N'UTILISANT QUE CERTAINES VALEURS DE CCS

Tableau n°19 : performances et seuils des meilleures règles de décision.

Critères	s Nb CCS N°CCS	(S.inf,S.sup)	(x,y)	VG	Sens	•	X		VP2		
				( ,,,,	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
C5	4	3,4,6 et 8	$(400,1000)*10^3$	(2,2)	66,8	72,6	79,0	48,8	79,5	59,6	52,3
C5	4	3,4,6 et 8	(500,1000)*10 <sup>3</sup>	(1,2)	66,8	72,6	75,2	53,5	82,0	58,6	52,3
C5	4	3,4,6 et 8	(500,1000)*10 <sup>3</sup>	(2,2)	67,1	72,6	79,6	48,8	79,6	60,2	52,3
C6	3	3,4 et 6	$(500,1000)*10^3$	(1,2)	66,8	75,0	74,2	53,5	82,9	58,1	50,6
C6	3	3,4 et 6	(500,1000)*10 <sup>3</sup>	(2,2)	66,8	75,0	78,5	48,0	80,0	59,2	50,6

La lecture du tableau n°19 nous précise que la meilleure valeur de VG est de 67,1%. Les valeurs des sensibilités et des spécificités sont élevées car toujours supérieures à 72%. Les valeurs de X, VP2 et VP3 sont faibles, par contre toutes les valeurs de VP1 sont élevées puisque toujours supérieures à 79%.

Les règles de décision optimales à la mamelle, en considérant 3 et 4 temps, ont donné au seuil inférieur la valeur de 500\*10<sup>3</sup> ¢/mL, avec 2 dépassements autorisés à une mamelle pour figurer dans la classe des mamelles « saines », et au seuil supérieur la valeur de 1000\*10<sup>3</sup> ¢/mL, avec 2 dépassements nécessaires pour classer une mamelle dans les « infectées bilatérales ».

# **IV.DISCUSSION**

# I.DES MATÉRIELS ET DES MÉTHODES

#### I.1.LES ÉLEVAGES ET LES ANIMAUX

Dans notre plan d'expérimentation, les élevages choisis ont été sélectionnés sur les CCS de lait de tank (CCT). Les élevages retenus présentaient des CCT régulièrement supérieurs à 1000\*10° ¢/mL afin de pouvoir disposer de gammes de CCI variées et étendues. Tout cela a été fait dans le but de donner plus de puissance aux tests statistiques et donc aux résultats en découlant. Dans chacun des 8 élevages étudiés, les animaux ont été sélectionnés d'après les résultats d'analyses bactériologiques, une palpation de la mamelle, et leurs CCI de la campagne précédente quand ils étaient disponibles. Nous avons pris soin de retenir des animaux appartenant à toutes les classes d'âge afin de ne pas biaiser l'analyse en éliminant l'effet « numéro de lactation ».

### I.2.LES PRÉLÈVEMENTS ET TECHNIQUES ANALYTIQUES

Les prélèvements pour les CCS de même que pour les analyses microbiologiques ont été réalisés d'après des méthodes de routine utilisées sur le terrain et mentionnées régulièrement dans la bibliographie. Les analyses bactériologiques ont été réalisées d'après des méthodes classiquement utilisées et en routine par notre équipe.

La congélation à -20°C est une méthode qui a été validée par de nombreuses équipes. Celle de Jiménez (1999) a travaillé sur des échantillons de lait de chèvres atteintes de mammites subcliniques (au moins 2 isolements consécutifs du même agent pathogène). Chaque échantillon de 100 mL a été réparti en 32 aliquotes de 2 mL. Puis 16 d'entre eux ont été congelés à -20°C pendant que les 16 autres étaient congelés à -80°C. La congélation a duré 7 jours au minimum et 236 jours au maximum. Les décongélations ont eu lieu au 7<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup>, 21<sup>ème</sup>, 28<sup>ème</sup>, 58<sup>ème</sup>, 118<sup>ème</sup>, 178<sup>ème</sup> et au 236<sup>ème</sup> jour et ont été suivies d'analyses microbiologiques qui se sont toutes avérées positives. Ils ont ainsi validé chez la chèvre la congélation des échantillons de lait à -20 et -80°C dans le cadre du diagnostic des mammites subcliniques. D'autres études ont été faites chez la vache laitière, par Schukken et *al.* (1989) et Murdough et *al.* (1996) qui ont congelé des échantillons de lait à -80°C pendant 14 jours et à -20°C pendant 6 semaines, avec des résultats en accord avec les précédents.

Les CCS, réalisés dans les laboratoires interprofessionnels d'analyses laitières, ont été effectués par la méthode opto-fluoro-électronique, validée chez les petits ruminants par Hahn et al. (1992) et Gonzalo et al. (1993) et très largement utilisée en routine. Les 2 équipes ont confronté la méthode microscopique (méthode de référence) à la méthode opto-fluoro-électronique. La première a comparé 68 échantillons de lait de brebis présentant des CCS compris entre 10<sup>4</sup> et 10<sup>7</sup> ¢/mL et a obtenu un coefficient de corrélation de 0,975 entre les 2 méthodes. La seconde équipe a confirmé ces premiers résultats en étudiant 85 échantillons de lait de brebis présentant des CCS compris entre 15\*10<sup>3</sup> et 4\*10<sup>6</sup> ¢/mL et a obtenu un coefficient de corrélation de 0,986 entre ces 2 méthodes directes d'estimation du nombre de cellules somatiques. Cette équipe a également évalué la répétabilité de la méthode opto-fluoro-électronique qu'elle a trouvée conforme aux exigences de la FIL1. Les laboratoires sont eux mêmes régulièrement contrôlés par le Centre d'Etude et de Contrôle des Analyses en Industrie Laitière (CECALAIT). Pour ce faire, 2 types de contrôles son mis en oeuvre. Les laboratoires reçoivent régulièrement des échantillons dont ils doivent évaluer la concentration en cellules somatiques, les résultats fournis sont ensuite comparés à ceux fournis par la méthode de référence. De même, ces laboratoires reçoivent à des fréquences déterminées des échantillons étalons à teneur garantie en cellules somatiques afin de calibrer leurs automates.

\_

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Fédération Internationale de Laiterie.

### **I.3.LES MÉTHODES**

Compte tenu de la distribution bimodale des CCS, variable quantitative, dans la population ovine laitière, notre équipe a fait le choix de travailler avec 3 classes de demi-mamelles comme de mamelles entières (Cf. Graphique n°2).

Les 6 critères utilisés, basés sur les résultats d'analyses bactériologiques du lait des demimamelles, sont proches de ceux qui avaient été définis par l'équipe de Pathologie de la Reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (Bergonier *et al.*, 1994c). Notre travail, dans la continuité des méthodes utilisées par l'équipe, trouve son originalité dans le fait qu'il s'est intéressé à des cinétiques de comptages de cellules somatiques sur une lactation entière et non à des comptages ponctuels comme le font les autres équipes.

De même, nos définitions du statut infectieux de la mamelle, à partir de celui des 2 demimamelles la composant selon la classification n°1, ont déjà été mises en application par Bergonier et al. (1994c). Cependant, par rapport à ces travaux, nous avons envisagé la possibilité d'affiner encore le dépistage en découpant la classe des mamelles « infectées » en 2 selon que l'infection est uni ou bilatérale. En terme de stratégies opérationnelles une telle éventualité ne serait pas sans conséquences. En effet, une brebis dont la mamelle serait infectée unilatéralement en fin de campagne resterait candidate à un traitement antibiotique «hors lactation » afin de préparer la campagne suivante, alors que la réforme semblerait toute indiquée pour une brebis infectée de manière bilatérale. Cette réalité de terrain justifie l'évaluation de la pertinence de la classification n°2.

Les méthodes statistiques, utilisées dans notre étude pour l'établissement des règles de décision, ont déjà été employées par Bergonier et al. (1994). Par rapport à cette étude, nous avons seulement étendu les valeurs de « x » et « y » (« x » = nombre de dépassements autorisés du seuil inférieur et « y » = nombre de dépassements nécessaires du seuil supérieur) jusqu'à 2. En effet, « x » ne prenait dans cette étude que les valeurs 0 ou 1 et « y » que la valeur 1. Cette extension a donné la possibilité à une brebis, quand « y » = « x » = 2, de dépasser une fois le seuil supérieur tout en restant classée parmi les « saines ». Ainsi, un épisode aigü, unique, sur une lactation, ne déclasse plus une telle brebis qui a sûrement été infectée, mais de façon brève, et qui est parvenue à se débarrasser de l'infection.

### II.DES RÉSULTATS DESCRIPTIFS

## II.1.LES ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES

Elles ont mis en évidence 2 faits essentiels. Le premier c'est que la majorité des échantillons de lait, près de 60%, étaient stériles. En conséquence la prévalence dans notre étude des infections subcliniques à la demi-mamelle était donc d'environ 40%. Ce chiffre se trouve être dans la fourchette de 20 à 55% proposée par Bergonier et al. (1994c et 1998) et Bor et al. (1989) ainsi que dans celle de Las Heras et al. (1998) qui affiche de 5 à 67% de demi-mamelles atteintes de mammite subclinique. De même, chez la vache laitière, une étude récente de Fabre et al. (1997), sur 10 sites en France et plus de 2000 échantillons de lait de quartiers, a mis en évidence une prévalence des mammites subcliniques de l'ordre de 40%. Le second réside dans la part importante des staphylocoques comme agents étiologiques des mammites subcliniques chez la brebis laitière. Dans notre étude, ils ont en effet représenté presque 33% des prélèvements et 80% des isolements.

Une autre constatation, plus caractéristique de la brebis laitière, réside dans la répartition des isolements staphylococciques. En effet, Staphylococcus aureus, présent dans 29% des isolements chez la vache (Fabre et al.,1997), n'en a représenté que 3% dans notre étude, et de 5 à 8% pour Bergonier et al. (1998) alors que les SCN ont constitué plus de 75% des isolements staphylococciques. Ceci constitue une grande part des différences observées dans les étiologies des mammites subcliniques de la brebis et de la vache laitières. Dans l'étude de Bergonier et al. (1994b), les SCN ont également été les germes les plus fréquemment isolés avec 82 et 91% des isolements. La prévalence élevée de ces SCN dans l'étiologie des mammites subcliniques chez la brebis laitière a également été rapportée par les équipes de Cossedu (1994), de la Cruz (1994) et Fthenakis (1994a) dans lesquelles ils ont respectivement représenté 75, 79, et 41% des isolements. En 1998, Bergonier et al. confirment la prépondérance des SCN qui représentent plus de 75% des isolements, Las Heras et al. (1998) ont fait la même constatation avec des SCN rencontrés dans 68% des isolements. Chez la vache enfin, les SCN sont responsables de 41% des cas de mammites subcliniques (Fabre et al., 1997), ce qui est très nettement supérieur aux 10% de mammites subcliniques classiquement attribués à ces pathogènes «mineurs » (Seegers et al., 1997). Nous devons dès lors, chez la vache comme chez la brebis, accorder à ces pathogènes dits «mineurs » (dénomination autrefois utilisée en pathologie mammaire chez la vache laitière) une attention toute particulière et les considérer comme des agents réellement pathogènes.

Dans notre étude, les SCN les plus souvent mis en cause ont été *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus simulans* qui ont représenté respectivement 32, 15 et 15% des isolements staphylococciques. *Staphylococcus epidermidis* était également l'espèce prépondérante avec respectivement 32, 44, 30 et 40% des SCN dans les études de Bergonier et *al.* (1994b), Cossedu et *al.* (1994), Fthenakis et *al.* (1994a) et Las Heras et *al.* (1998). Cette prépondérance de *Staphylococcus epidermidis* est commune à toutes les zones méditerranéennes de production de lait de brebis, puisque Bergonier et *al.* (1998) le mentionnent comme responsable de 26, 30 et 33% des isolements respectivement en France, en Espagne et en Sardaigne. Dans cette publication, nous retrouvons aussi les autres espèces de SCN rencontrées fréquemment dans notre étude à savoir *Staphylococcus xylosus*, *simulans* et *chromogenes*.

Enfin, la part relative des pathogènes dits « majeurs » dans l'étiologie des mammites subcliniques de la brebis laitière est faible, puisqu'ils n'ont représenté que 3,3% des isolements dans notre étude. Peut-être conduisent-ils à la déclaration d'épisodes cliniques souvent suivis, en élevage ovin, d'une réforme minimisant ainsi leur persistance? S'il faut en retenir un, notons que Staphylococcus aureus, qui n'a représenté que 2% des isolements, correspond quand même à 67% des isolements de pathogènes majeurs. Ceci est en accord avec les études de Bergonier et al. (1994c), de Cossedu et al. (1994), de de la Cruz et al. (1994) et de Fthenakis et al. (1994a) qui l'ont crédité respectivement de 5, 10, 3 et 17% des bactériologies positives. Plus récemment, Bergonier et al. (1998) ont présenté les résultats bactériologiques de 3 pays producteurs de lait de brebis. Leurs travaux ont mis en évidence Staphylococcus aureus dans 5, 8 et 1% des isolements respectivement pour la France, l'Espagne et la Sardaigne. Las Heras et al. (1998) ont obtenu des résultats similaires en retrouvant Staphylococcus aureus dans 4% des isolements. Cette constatation débouche sur une autre différence majeure en terme d'étiologie des mammites subcliniques chez la brebis et la vache laitières. En effet, chez la seconde, les observations faites notamment par Brolund et al. (1985), Philippon (1991) et Fabre et al. (1997) dans l'étude des étiologies des mammites subcliniques ont accordé 29 à 48% des isolements à Staphylococcus aureus. Rappelons que ce germe présente en matière de santé publique une importance toute particulière. Cependant, précisons que sa présence dans le lait n'implique pas sa présence (ni celle de toxines) dans les fromages.

Une autre différence entre ces 2 espèces dans l'étiologie des mammites subcliniques réside dans le rôle des streptocoques et d'*Escherichia coli*. Les études de Brolund et *al.* (1985), Fabre et *al.* (1997) et Philippon (1991) leur ont accordé respectivement de 19 à 48% et de 0 à 5% des isolements. Alors que les études sur la brebis laitière accordent 4 et 13% des isolements aux streptocoques et seulement 1% à *Escherichia coli*, Bergonier et *al.* (1998) et Las Heras et *al.* (1998). Ces valeurs sont en accord avec celles présentées dans notre étude où les streptocoques sont à l'origine de 2% des isolements et *Escherichia coli* est elle responsable de 3% des analyses bactériologiques positives.

# II.2.LA PRÉVALENCE MENSUELLE

A la demi-mamelle, la prévalence a été d'environ 40% sur l'ensemble de la campagne laitière. Cette valeur est nettement supérieure à celles rencontrées dans la littérature. Ceci tient probablement au fait que les élevages ont été sélectionnés sur des comptages cellulaires de tank élevés. Dans une étude de Bergonier et al. (1994b), les pourcentages calculés sur plusieurs lots de brebis étaient compris entre 5 et 35%. Plus récemment et sur 3 pays producteurs de lait de brebis, la prévalence des mammites subcliniques à la demi-mamelle d'après Bergonier et al. (1998), a été évaluée à 16%. Pour Las Heras et al. (1998), elle a été comprise entre 5 et 67% dans les 22 troupeaux suivis. En fait cette prévalence paraît très variable (un effet troupeau est souvent mis en évidence) et largement dépendante du plan d'expérimentation lui-même adapté à l'objectif recherché.

# **II.3.LES CLASSIFICATIONS**

A la demi-mamelle, la stérilité a été la règle, puisque selon les critères, de 36 à 60% des demi-mamelles ont été déclarées « saines ». On peut noter, que la construction des critères qui a toujours visé à discriminer les 3 classes de demi-mamelles, à la différence des autres équipes qui n'en considèrent que 2, a fourni une quasi-inversion des pourcentages entre demi-mamelles « saines » et « infectées » au long des classifications par les 6 critères. L'objectif de départ, qui consistait à vouloir déplacer les demi-mamelles à l'aide des 6 critères d'une classe à l'autre, sans pour autant obtenir un nombre trop élevé de demi-mamelles « douteuses », a donc été atteint.

A la mamelle, par la classification n°1, le pourcentage de mamelles « saines » est faible, 19 à 41%. Ceci découle directement de la construction de cette classification par laquelle statistiquement il est plus difficile pour une mamelle d'être « saine » (il est nécessaire que les 2 demi-mamelles la composant soient « saines ») que pour une demi-mamelle. Pour la même raison, le pourcentage de mamelles « infectées » (il est suffisant qu'une demi-mamelle sur les 2 soit « infectée ») est élevé et compris entre 67 et 53%. Mais cette fois encore la répartition des différentes catégories de mamelles tout au long des 6 critères est acceptable, la proportion de « douteuses » restant assez faible.

A la mamelle, par la classification n°2, le pourcentage de mamelles « saines » est plus élevé et compris entre 33 et 47%. Ceci découle du fait que cette classification est un peu plus "permissive" que la précédente. En effet, la classe des mamelles « saines » totalise les mamelles composées de 2 demi-mamelles « saines » bien sûr, mais aussi de 2 demi-mamelles « douteuses » et d'1 demi-mamelle « saine » et d'1 demi-mamelle « douteuse ». Cette classification a pour but d'essayer de distinguer les infections unilatérales des infections bilatérales. Le pourcentage de mamelles « infectées unilatéralement » a été très constant et égal à 36%. Les critères ont essentiellement modifié la répartition des mamelles dans les 2 classes extrêmes. A l'instar de la première classification, celle-ci n'a que rarement été testée.

### **II.4.LES COMPTAGES CELLULAIRES**

# II.4.1.RELATION ENTRE LE NOMBRE D'ISOLEMENTS PAR DEMI-MAMELLE ET LA MOYENNE DES LOG DES CCS DE DEMI-MAMELLES

Le graphique n°9 a mis en évidence, à l'échelle de la demi-mamelle, une corrélation linéaire entre le nombre d'isolements et la moyenne des Log de ses CCS avec un coefficient de détermination de 0,9855 ; ceci signifie que l'équation de la droite de régression explique plus de 98 % de la variance observée. Dans un premier temps cette forte corrélation qui existe entre isolements et CCS nous conforte dans le choix des CCS comme témoins de l'infection et donc comme outil de dépistage des mammites. Ensuite, cette forte corrélation confirme la grande difficulté, voire l'impossibilité, de définir *a priori* le statut infectieux d'une demi-mamelle à partir d'un ou deux résultats de CCS. Il apparaît alors préférable d'envisager une approche dynamique des infections et de leur traduction en terme de CCS. Enfin, cette corrélation crédite le mode de construction des 6 critères bactériologiques, basé sur le nombre d'isolements sur la campagne laitière (fréquence absolue) ainsi que sur la répétition des types bactériens isolés (fréquence relative).

#### II.4.2.CINÉTIQUE DES CCS ET STATUT INFECTIEUX

Pour une demi-mamelle moyenne « saine », il semble possible de présenter des CCS mensuels toujours inférieurs à 200\*10° ¢/mL. Cette constatation est en accord avec la littérature proposant des seuils ponctuels et uniques à la mamelle «saine » : 200\*10° ¢/mL (Romeo et al., 1994), 250\*10° ¢/mL (Romeo et al., 1994 ; de la Cruz et al., 1991 ; Beltran de Heredia & Itturitza, 1988), 300\*10° ¢/mL (Otto, 1991; Fruganti et al., 1985 ; Zarzycki et al., 1983), et 500\*10° ¢/mL (Fthenakis et al., 1994c ; Otto, 1991).

Pour une demi-mamelle moyenne « infectée », la majorité des CCS sont supérieurs à  $600*10^3$  ¢/mL. Les valeurs rencontrées dans la littérature comme seuil ponctuel sont  $468*10^3$  ¢/mL (Bergonier et *al.*, 1994c), >  $500*10^3$  ¢/mL (Fthenakis et *al.*, 1994b), >  $1000*10^3$  ¢/mL (Fthenakis et *al.*, 1991 et 1994c).

A la mamelle, à l'aide de la classification n°1, on retrouve une grande majorité des CCS mensuels inférieurs à la valeur de  $300*10^3$  ¢/mL sur une grande partie de la campagne laitière pour une mamelle moyenne « saine », et avoisinant les  $800*10^3$  ¢/mL pour une mamelle moyenne « infectée ».

La classification n°2 nous autorise à dire que les mamelles « infectées unilatéralement » et « bilatéralement » ne présentent pas les mêmes cinétiques de CCS mensuels. Ceci permet de nourrir l'espoir de parvenir à les discriminer à l'aide de leur CCS (notons que la moyenne géométrique pour le deuxième mois de lactation anormalement basse pour des mamelles déclarées « infectées » tient à des erreurs de dénombrement des cellules somatiques pour ce mois là).

C'est également ce que tend à prouver le graphique n°13 dans lequel les différentes compositions de demi-mamelles conduiraient bien à la séparation des mamelles en 3 groupes distincts en fonction de leur statut infectieux. Ainsi nous pourrions différencier les mamelles « saines » des mamelles « infectées unilatéralement » ou « bilatéralement ».

## **III.DES RÉGLES DE DECISION**

## III.1.A LA DEMI-MAMELLE

Cette étape a constitué un passage obligé pour l'étude expérimentale mise en place et les objectifs que nous nous étions fixés. En effet, l'échelle de la demi-mamelle est celle pour laquelle la relation CCS-isolement bactérien est la plus directe, la moins biaisée. Cependant ne perdons pas de vue que les règles de décision édictées par notre analyse statistique n'ont aucune visée opérationnelle. Par contre les résultats de l'étude à l'échelle des demi-mamelles doivent nous encourager à mener plus avant notre travail. En l'occurrence, définir des seuils opérationnels de comptages individuels de cellules somatiques.

#### III.1.1.EN UTILISANT TOUTES LES VALEURS DE CCS

La meilleure règle de décision a une VG de 68%, une sensibilité de 89% et une spécificité de 61%. Cette règle a donné au couple (x,y) la valeur (2,1), au seuil inférieur celle de  $500*10^3$  ¢/mL et au seuil supérieur celle de  $1200*10^3$  ¢/mL.

Ces résultats sont du même ordre de grandeur que ceux déjà présentés par l'équipe de Pathologie de la Reproduction en 1996 à partir de l'étude de 266 demi-mamelles issues des 2 plus grands bassins de production. La meilleure règle de décision de cette étude présentait une VG de 75%, une sensibilité de 91% et une spécificité de 79%. Cette règle a fourni le même couple (x,y) soit le couple (2,1), au seuil inférieur la valeur de 400\*10³ ¢/mL et au seuil supérieur celle de 900\*10³ ¢/mL. Nous devons constater que les performances de cette règle étaient meilleures que celle proposée par notre étude pour laquelle l'échantillon est de plus grande taille mais pour laquelle l'analyse des données a été réalisée en prenant en compte des contraintes supplémentaires (notamment sur la possibilité de dépasser le seuil supérieur de CCS pour les demi-mamelles saines).

### III.1.2. SANS PRENDRE EN COMPTE LE PREMIER CCS

Cette analyse a été réalisée afin de s'affranchir d'un éventuel effet de la période colostrale et de début d'allaitement-traite. En effet, la littérature définit l'effet « stade de lactation » comme le principal facteur non infectieux de variation des CCS. Les travaux sur des mamelles déclarées saines après analyse bactériologique d'un échantillon de lait ont mis en évidence un rapport moyen entre CCS de fin de lactation et CCS de milieu de lactation de 6,3 et un rapport moyen entre CCS de début de lactation et CCS de milieu de lactation d'environ 1,3 (Morgante et al., 1994, Romeo et al., 1994). C'est pourquoi il existe une courbe type d'évolution des CCS en fonction du stade de lactation sur laquelle il est possible d'observer des valeurs de CCS plus élevées en début de lactation qu'au milieu et une augmentation progressive des valeurs de CCS en fin de lactation (Bergonier et al., 1994a, Lagriffoul et al., 1994).

En s'affranchissant du premier CCI de chaque demi-mamelle, nous avons constaté une nette amélioration de la règle. En effet, la meilleure règle a une VG de 72%, une sensibilité de 90% et une spécificité de 67%. Cette règle a conservé au couple (x,y) la valeur (2,1), au seuil inférieur celle de 500\*10<sup>3</sup> ¢/mL et au seuil supérieur celle de 1200\*10<sup>3</sup> ¢/mL.

Notons qu'à la demi-mamelle, quel que soit le critère retenu et le nombre de CCS pris en compte, les meilleures règles sont très proches. Elles ont toutes donné au couple (x,y) la valeur (2,1), de même, elles n'ont proposé que 2 valeurs pour le seuil inférieur qui sont 400 et 500\*10<sup>3</sup> ¢/mL, le seuil supérieur est apparu plus variable puisqu'il a pris les valeurs de 900, 1000, 1100 et 1200\*10<sup>3</sup>

 $\phi$ /mL. Les performances de ces règles de décision ainsi que les différentes valeurs proposées sont proches de celles établies par les travaux, à la demi-mamelle, de Bergonier et *al.* (1994c) qui proposent pour le couple (x,y) les valeurs (1,3), pour le seuil inférieur la valeur de 500\*10<sup>3</sup>  $\phi$ /mL et la valeur de 1000\*10<sup>3</sup>  $\phi$ /mL pour le seuil supérieur.

# III.2.A LA MAMELLE

Les résultats fournis par les règles de décision, à la mamelle, montrent qu'il est possible de disposer d'un outil de dépistage des infections mammaires subcliniques à partir du profil des CCS d'une lactation et des valeurs de « x », « y », et des seuils inférieur et supérieur, même si les meilleures VG obtenues ne sont pas toujours supérieures ou égales aux 80% requis pour les tests de dépistage (Epidémiologie, M. Jenicek & R.Cléroux, 1987).

### III.2.1.CLASSIFICATION N°1

Il faut noter d'emblée la grande homogénéité des meilleures règles de décision obtenues par cette classification. En effet, quel que soit le critère retenu, le nombre de CCS pris en compte après les avoir ramenés à l'origine ou pas, les règles ont toutes donné la même valeur au couple (x,y) à savoir (2,1), de même, elles n'ont proposé que 2 valeurs pour le seuil inférieur qui sont 400 et 500\*10<sup>3</sup> ¢/mL, le seuil supérieur est apparu encore une fois plus variable puisqu'il a pris les valeurs de 1000, 1100 et 1200\*10<sup>3</sup> ¢/mL. Les VG sont comprises entre 73 et 78%, les sensibilités entre 83 et 91% et les spécificités entre 57 et 80%.

Il est aisé de constater que les performances de ces règles de décision ainsi que les différentes valeurs proposées sont proches de celles décrites ci-dessus à l'échelle de la demi-mamelle.

Autre résultat intéressant, celui de pouvoir dépister les mammites subcliniques avec une assez bonne précision non plus au regard d'une cinétique complète de CCI soit 7, 8 ou 9 CCI, mais au vu de 4 ou 5 seulement. Au final les 2 meilleures règles proposées sont assez proches et présentent l'avantage d'avoir de meilleures performances que les règles précédentes prenant en compte l'ensemble des CCS après les avoir ramenés à l'origine ou pas. Ces règles ont une VG de 78%, une sensibilité de 86% et une spécificité de 76%. Ces règles ont toutes donné les mêmes valeurs au couple (x,y) soit (2,1), au seuil inférieur (500\*10³ ¢/mL) et au seuil supérieur (1000\*10³ ¢/mL). Nous pensons que cette règle présente les caractéristiques fondamentales pour devenir demain l'outil de terrain des stratégies de dépistage, de suivi et de contrôles des CCS dans les exploitations laitières.

Notons que les temps 1, 5, 6 et 8 non pris en compte par cette règle sont ceux pour lesquels les facteurs non infectieux de variation des CCS peuvent être les plus importants, à savoir le début et la fin de campagne laitière, ainsi que la mise à l'herbe au printemps. En début de campagne, on cumule souvent en élevage ovin laitier les phases colostrale et d'allaitement durant lesquelles Gonzalo et al. (1986) obtiennent des valeurs moyennes de CCS plus élevées. En fin de campagne, certains auteurs expliquent l'augmentation des CCS par un phénomène de concentration des cellules dans le lait alors que la production diminue (Gonzalo et al.,1992). Enfin, Aleandri et al. (1984) ont constaté une augmentation des CCS à la mise à l'herbe des brebis laitières.

Par la suite, si sur un plan scientifique et intellectuel la répartition des brebis en 3 classes est satisfaisante, sur un plan opérationnel, la classe des brebis « douteuses » n'a pas lieu d'être. En effet, l'éleveur, confronté à une situation exigeant une prise de décision claire, se doit d'être pragmatique. Dans ce but, nous pourrions proposer des règles de décision qui ne départageraient les brebis qu'en

« saines » ou « infectées ». La classe des « douteuses » pourrait être regroupée soit avec les « saines » soit avec les « infectées » en fonction des diverses situations épidémiologiques ainsi que de l'objectif recherché. De tels regroupements, en plus d'être mieux adaptés aux situations de terrain, amélioreraient les performances des règles, notamment la VG, la sensibilité et la spécificité. Dans l'étude de Bergonier et al. (1994c), le regroupement des brebis « saines » avec les « douteuses » versus « infectées » a amélioré la VG de 15% puisqu'elle est passée de 79,2% à 95,3%, par contre la spécificité et la sensibilité n'ont que peu varié, elles sont restées proches respectivement de 98 et de 68%.

### III.2.2.CLASSIFICATION N°2

Notons d'emblée que les règles de décision obtenues par cette classification ont présenté de moins bonnes performances que celles établies à partir de la classification n°1 à l'exception des valeurs de VP2 qui sont plus élevées. Les meilleures règles sont encore très homogènes quant aux valeurs qu'elles ont données aux seuils inférieur et supérieur à savoir les valeurs de 400 ou 500\*10³ ¢/mL et celles de 1000, 1100 ou 1200\*10³ ¢/mL. Les valeurs prises par le couple (x,y) sont très variables puisque « x » a pris les valeurs 1 ou 2 pendant que « y » prenait les valeurs 2, 3, 4 ou 6.

Les 2 meilleures règles prenant en compte l'ensemble des valeurs de CCS ont une VG voisine de 74%, une sensibilité de 62% et une spécificité de 63%. Ces règles ont donné la même valeur au couple (x,y) soit (2,4), et des valeurs différentes au seuil inférieur (400 et 500\*10³ ¢/mL) et supérieur (1000 et 1100\*10³ ¢/mL). Les performances de ces règles ainsi que les différentes valeurs proposées sont meilleures que celles rencontrées dans les études de Berthelot et *al.* (non publiées) dans lesquelles le nombre de dépassements autorisés du seuil supérieur (« y ») était limité à 2.

Le fait de ramener les CCS à l'origine n'a pas amélioré les performances des règles. Au contraire l'ensemble des valeurs de la VG, des sensibilités et des spécificités ont beaucoup chuté, la sensibilité s'est avérée être le paramètre du test le plus affecté par cette manipulation puisqu'elle n'a jamais dépassé 30%. Les performances affichées par ces règles nous en interdisent toute utilisation.

Par contre, il paraît possible de dépister les mamelles « infectées bilatéralement » avec une assez bonne précision sans pour autant avoir besoin d'une cinétique complète de CCI. En effet, 3 ou 4 CCI suffisent. Ces règles ont une VG de 67%, une sensibilité de 73 ou 75% et une spécificité de 79%. Ces 2 règles ont donné la même valeur au couple (x,y) soit (2,2), au seuil inférieur (500\*10³ ¢/mL) et au seuil supérieur (1000\*10³ ¢/mL). Cette règle pourrait, compte tenu de la valeur élevée de sa sensibilité et malgré une VG un peu faible, être utilisée demain pour réformer les brebis dont les 2 demi-mamelles seraient infectées. Notons que les temps 3, 4 et 6 pris en compte par cette règle sont ceux pour lesquels l'effet « stade de lactation » comme facteur non infectieux de variation des CCS est le moins marqué.

Comme nous l'avons discuté pour la classification n°1, des regroupements de classes pourraient être appliqués à la classification n°2 dont le but est de décomposer les brebis prévues « infectées » par la classification n°1 en brebis « infectées unilatéralement » et en brebis « infectées unilatéralement ». Le regroupement des « saines » et des « infectées unilatéralement » aurait pour but d'identifier les brebis « infectées bilatéralement » candidates sans appel à la réforme. Le regroupement des « infectées unilatéralement » et des « infectées bilatéralement » aurait pour but d'identifier les meilleures candidates à la mise à la reproduction afin de constituer le troupeau laitier de la campagne suivante.

Rappelons que toutes les règles proposées par notre étude sont étroitement dépendantes du plan d'expérimentation. L'échantillonnage pratiqué, rapelé dans la partie des Matériels et Méthodes, devra faire l'objet d'éventuels ajustements, principalement en fonction de la prévalence des infections intramammaires subcliniques dans les troupeaux laitiers. En effet, de cette prévalence dépendent les valeurs prédictives VP1, VP2, VP3 et la VG des différentes règles. Cependant jusqu'ici, chez la brebis laitière, la prévalence ne peut qu'être estimée à partir des CCT (Lagriffoul et al., 1998). En effet, leurs travaux ont permis d'estimer l'augmentation du pourcentage de brebis « infectées » (définies infectées par la règle de décision qui donne au couple (x,y) la valeur (2,2), au seuil inférieur la valeur de 500\*10³ ¢/mL et au seuil supérieur celle de 1000\*10³ ¢/mL, Bergonier et al., 1994) à 3% par tranche de 100\*10³ ¢/mL du CCT. En sachant qu'un CCT de 300\*10³ ¢/mL correspondait dans leur étude à une prévalence des mammites subcliniques de 6% et qu'un CCT de 1000\*10³ ¢/mL correspondait lui à une prévalence de 26%.

## IV.DE L'OUTIL OPÉRATIONNEL

En tout début de campagne, face à un CCT élevé et en l'absence de CCI, l'éleveur pourra envisager la réalisation de CCI sur l'ensemble du troupeau dans le but d'identifier les brebis responsables. Pour connaître le nombre de brebis à éliminer, le producteur pourra s'appuyer sur le fait qu'un CCT de 1000\*10³ ¢/mL correspond à 26% de brebis infectées, et qu'une augmentation du CCT de 100\*10³ ¢/mL correspond à une hausse de la prévalence de 3% au sein du troupeau. Au retour des résultats de CCI, il pourra décider de conserver les brebis présentant des CCI inférieurs à 400\*10³ ¢/mL correspondant au seuil ponctuel caractéristique des mamelles «saines » et éliminer le nombre de brebis nécessaire parmi celles qui présentent les CCI les plus élevés.

En début de campagne (février, mars), si le producteur est confronté à des CCT élevés, il va devoir identifier les brebis à CCS élevés et les réformer. Pour cela il devra utiliser une règle par la classification n°1 qui avec les premiers CCI présente une bonne sensibilité si la situation n'est pas préoccupante car il y aura existence de faux négatifs, c'est-à-dire des brebis infectées non identifiées ou une bonne VP3 si la situation est grave et ne peut tolérer de faux négatifs, il y aura dans ce cas là existence de faux positifs, c'est-à-dire des brebis non infectées qui seront prévues comme infectées (Cf. Annexe n°3).

Jusqu'au mois de mai, pour des raisons économiques bien compréhensibles, les éleveurs modèrent leurs actions. La proportion de brebis infectées augmente progressivement à l'intérieur des troupeaux laitiers. Après le mois de mai, dès lors que la prime PCO est attribuée, les producteurs pourront appliquer une règle par la classification n°1 prenant en compte plusieurs CCI et présentant une VP3 élevée quitte à réformer quelques brebis par excès (Cf. Annexe n°3).

En fin de campagne, les éleveurs peuvent encore réformer une partie de leur cheptel notamment les brebis « infectées bilatéralement » en utilisant une règle issue de la classification n°2 présentant une bonne sensibilité (Cf. Annexe n°4), mais ils peuvent également envisager d'appliquer un traitement antibiotique sélectif hors lactation des mamelles « infectées unilatéralement ». Dans ce cas le producteur devra utiliser une règle issue de la classification n°2 présentant une VP2 élevée quitte à traiter des brebis qui n'en avaient pas besoin (Cf. Annexe n°4).

Cependant, si sur un plan technique et économique, il est envisageable de récolter l'information nécessaire à l'utilisation de telles règles sur le terrain, c'est-à-dire les CCI, il faudra encore que les producteurs se familiarisent avec cet outil de dépistage afin d'en garantir la réussite. A court terme, ce devrait être l'objectif avoué de la majorité des acteurs de cette filière...

# **V.CONCLUSIONS**

Les résultats de nos analyses microbiologiques ont tout d'abord confirmé l'étiologie des mammites subcliniques chez la brebis laitière. Et si près de 60% des échantillons de lait étaient stériles, presque 33% ont présenté un isolement staphylococcique. Parmi les staphylocoques, les SCN ont représenté 75% des isolements. Les SCN les plus fréquents dans notre étude ont été *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus simulans* et *Staphylococcus xylosus*. *Staphylococcus aureus* n'était présent que dans 2% des isolements.

Nos travaux, chez la brebis laitière, ont également confirmé que le principal facteur de variation des CCS est l'infection mammaire. En effet, la relation linéaire entre le nombre d'isolements par demi-mamelle et la moyenne des Log des CCS de demi-mamelles présente un coefficient de détermination égal à 0,9855.

Dès lors, les CCS apparaissent comme un paramètre pertinent dans le dépistage des mammites subcliniques chez la brebis laitière. Notre étude nous enseigne que, ponctuellement, une demi-mamelle « saine » présente un CCS inférieur à 200\*10 ¢/mL. La définition d'un seuil ponctuel pathologique est apparue moins évidente.

Notre étude a ensuite montré, que chez la brebis laitière, il est possible de prévoir le statut infectieux d'une demi-mamelle à partir du profil de ses CCS au cours de la lactation. La meilleure règle de décision définissant 3 classes de statut infectieux en fonction de 2 seuils est la suivante : une demi-mamelle est « saine » si tous ses CCS sont inférieurs à 500\*10<sup>3</sup> ¢/mL à l'exception de 2 qui doivent rester inférieurs à 1200\*10<sup>3</sup> ¢/mL, une demi-mamelle est « infectée » si un seul de ses CCS est supérieur à 1200\*10<sup>3</sup> ¢/mL, tous les autres profils de CCS correspondent à desdemi-mamelles « douteuses ». Cette règle a une VG de 72%, une sensibilité de 90% et une spécificité de 67%.

Nos travaux ont montré que les mamelles « saines » présentent des CCS inférieurs à  $400*10^3 \ e/mL$  et nous ont laissé à penser qu'il était également possible de différencier une infection unilatérale d'une infection bilatérale au vu d'un profil de CCS.

A l'échelle de la brebis, il s'est avéré que les profils de comptages individuels de cellules somatiques sur l'ensemble d'une lactation pouvaient constituer un bon outil de dépistage des infections intramammaires.

Pour la classification n°1, qui considère comme « saine » une brebis dont les 2 demimamelles sont « saines », comme « douteuse » une brebis dont au moins une demi-mamelle est « douteuse » à condition que l'autre ne soit pas « infectée » et comme « infectée » une brebis dont au moins une demi-mamelle est « infectée », la meilleure règle de décision prenant en compte toutes les valeurs de CCS est la suivante : une mamelle est « saine » si tous ses CCS sont inférieurs à  $500*10^\circ$  ¢/mL à l'exception de 2 qui doivent rester inférieurs à  $1200*10^\circ$  ¢/mL, une mamelle est « infectée » si un seul de ses CCS est supérieur à  $1200*10^\circ$  ¢/mL, tous les autres profils de CCS correspondent à des mamelles « douteuses ». Cette règle a une VG de 74%, une sensibilité de 88% et une spécificité de 63%.

Pour la classification n°1, qui considère comme « saine » une brebis dont les 2 demimamelles sont « saines », comme « douteuse » une brebis dont au moins une demi-mamelle est « douteuse » à condition que l'autre ne soit pas « infectée » et comme « infectée » une brebis dont au moins une demi-mamelle est « infectée », la meilleure règle de décision ne prenant en compte que certaines valeurs de CCS (ici les CCS n°2, 3, 4 et 7 qui correspondent aux comptages de cellules somatiques individuels pour les 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> mois de lactation) sur les 8 disponibles en moyenne par brebis est la suivante : une mamelle est « saine » si tous ses CCS sont inférieurs à

 $500*10^3$  ¢/mL à l'exception de 2 qui doivent rester inférieurs à  $1000*1^{\circ}$  ¢/mL, une mamelle est « infectée » si un seul de ses CCS est supérieur à  $1000*10^{\circ}$  ¢/mL, tous les autres profils de CCS correspondent à des mamelles «douteuses ». Cette règle a une VG de 78%, une sensibilité de 86% et une spécificité de 76%.

Pour la classification n°2, qui considère comme « saine » une brebis dont les 2 demimamelles sont « saines » ou « douteuses » ou dont une demi-mamelle est « saine » l'autre étant « douteuse », comme « infectée unilatéralement » une brebis dont au moins une demi-mamelle est « infectée » l'autre étant « saine » ou « douteuse » et comme « infectée bilatéralement » une brebis dont les 2 demi-mamelles sont « infectées », la meilleure règle de décision prenant en compte toutes les valeurs de CCS est la suivante : une mamelle est « saine » si tous ses CCS sont inférieurs à  $400*10^3$  ¢/mL à l'exception de 2 qui doivent rester inférieurs à  $1100*10^3$  ¢/mL, une mamelle est « infectée bilatéralement » si 4 de ses CCS sont supérieurs à  $1100*10^3$  ¢/mL, tous les autres profils de CCS correspondent à des mamelles «infectée unilatéralement». Cette règle a une VG de 74%, une sensibilité de 62% et une spécificité de 63%.

Pour la classification n°2, qui considère comme « saine » une brebis dont les 2 demimamelles sont « saines » ou « douteuses » ou dont une demi-mamelle est « saine » l'autre étant « douteuse », comme « infectée unilatéralement » une brebis dont au moins une demi-mamelle est « infectée » l'autre étant « saine » ou « douteuse » et comme « infectée bilatéralement » une brebis dont les 2 demi-mamelles sont « infectées », la meilleure règle de décision ne prenant en compte que certaines valeurs de CCS (ici les CCS n°3, 4 et 6 qui correspondent aux comptages de cellules somatiques individuels pour les 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> mois de lactation) sur les 8 disponibles en moyenne par brebis est la suivante : une mamelle est « saine » si tous ses CCS sont inférieurs à 500\*10 ¢/mL à l'exception de 2 qui doivent rester inférieurs à 1000\*10 ¢/mL, une mamelle est « infectée bilatéralement » si 2 de ses CCS sont supérieurs à 1000\*10 ¢/mL, tous les autres profils de CCS correspondent à des mamelles «infectées unilatéralement ». Cette règle a une VG de 67%, une sensibilité de 75% et une spécificité de 79%.

Ces règles devraient évoluer, pour s'adapter aux différentes situations rencontrées sur le terrain, en terme de prévalence dont dépendent leurs valeurs globales et prédictives, de pression de sélection envisageable, de positionnement dans la campagne laitière (début de campagne, prime compensatoire ovine (PCO), fin de campagne : réforme et plan de lutte pour préparer la campagne suivante), de coût, d'information disponible (nombre de CCI)... Il n'est pas possible de définir une stratégie unique, car il en faudrait, en fait, une par élevage, capable d'évoluer au cours de la lactation.

Donc l'application opérationnelle des modèles prédictifs suppose une véritable adaptabilité aux diverses situations épidémiologiques. Aussi sera-t-il possible de privilégier alternativement certains paramètres des règles en vue de les adapter à la situation étudiée.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

# **OUVRAGES**

- 1 JENICEK M. et CLEROUX R. Epidémiologie : Principes, Techniques et Applications. Montréal, Edisem inc. 2475 Sylva Clapin, St. Hyacinthe, Québec, 1987, 454 pages.
- 2 LEBRET P., X. BERTHELOT. Les infections mammaires de la vache laitière. Tome n°1 : Connaissances fondamentales. Document interne àl'ENVT.
- 3 LUQUET F.M.. Laits et produits laitiers. Vache, Brebis, Chèvre. Tome n°1 : Les laits : de la mamelle à la laiterie. Chapitre 1 : Composition et propriétés (L. Assenat) ; Chapitre 2 : Production du lait de brebis (H.Cottier).
- 4 Collection Lavoisier, TEC & DOC apria

# **ARTICLES**

- 5 ALEANDRI M., F. DE MICHELIS, R. COLAFRANCESCO & A. OLIVETTI, 1984. Valori citologici e agenti infettivi di mastite nel latte di pecora. Atti della societa Italiana delle Sci. Vet., 38, 431-433.
- 6 AMORENA B., R. PENADES, I. ALBIZU & R. BASELGA, 1992. Immunomodulacion. Ovis, 22, 87106.
- 7 BARILLET F & F. BOCQUIER, 1993. Le contexte de production des ovins laitiers en France : principaux objectifs de recherche- développement et conditions de leur mise en œ uvre. INRAProd. Anim., 1993, 6 (1), 17-24.
- 8 BAUDRY C., R. de CREMOUX, C. CHARTIER, G. PERRIN, 1996. Incidence de la concentration cellulaire du lait de chèvre sur sa production et sa composition. Vet. Res., 1997, 28, 227-286.
- 9 BAUMGARTNER W., A. PERNTHANER & G.EIBL, 1992. Einfluss der Laktationsperiode auf den Zellgehalt der Schafsmilch. Deutschland. Tier artzl. Wochenschr., 99, 56, 213-216.

- 10 BAYSSAL T. & B. KENAR, 1989. Konya ve yöresindeki koyunlarda klinik ve subklinik mastitis olgularindan aerob etken izolasyon ve identifikasyonu. Etlik Vet. Mikrob. Derg., 6, 4, 55-66.
- 11 BELTRAN DE HEREDIA F. & J. ITTURITZA, 1988. Recuento de células somaticas en leche de oveja Latxa. II. Determinacion del umbral fisiologico. Med. Vet., 5, 1, 33-38.
- 12 BERGONIER D., G. LAGRIFFOUL, D. CONCORDET, F. BARILLET & X. BERTHELOT, 1995. Infections mammaires subcliniques de la brebis laitière : rôle des Staphylocoques coagulase négative (SCN) et comptages de cellules somatiques. Proc. Int. Congrès Rencontres Recherche Ruminants, Paris 14-15 décembre, France.
- 13 BERGONIER D., G. LAGRIFFOUL, X. BERTHELOT & F. BARILLET, 1994a. Facteurs de variation non infectieux des comptages de cellules somatiques chez les ovins et les caprins laitiers. Proc. Int SYMP. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 14 BERGONIER D., F. LONGO, G. LAGRIFFOUL, P.J. CONSALVI, A. VAN DE WIELE & X. BERTHELOT, 1994b. Fréquence et persistance des staphylocoques coagulase négative au tarissement et relation avec les numérations cellulaires chez la brebis laitière. Proc. Int. Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 15 BERGONIER D., A. VAN DE WIELE, J.M. ARRANZ, F. BARILLET, G. LAGRIFFOUL, D. CONCORDET & X. BERTHELOT, 1994c. Détection des infections mammaires subcliniques chez la brebis laitière à l'aide des comptages de cellules somatiques : propositions de seuils physiologiques. Proc. Int. Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 16 BERGONIER D., X. BERTHELOT, M. ROMEO, A. CONTRERAS, V. CONI, E. De SANTIS, S.ROLESU, F. BARRILLET, G. LAGRIFFOUL & J. MARCO, 1998. Fréquence des différents germes responsables de mammites cliniques et subcliniques chez les petits ruminants laitiers. Proc. Int. Symp. Milking and milk production of dairy sheep and goats, Athens 26<sup>th</sup>september-1<sup>st</sup>october, Greece.
- 17 BOR A., M. XINKLER & E. GOOTWINE, 1989. Non-clinical intramammary infection in lactating ewes and its association with clinical mastits. Br. Vet. J., 145, 2, 178-184.
- 18 BROLUND L. 1985. Cells counts in bovine milk. Acta Vet. Scand. Suppl. 80: 1-123.
- 19 CARUOLO E.V., 1974. Milk yield, composition, and somatic celles as a function of time of day in goats under a continuous lighting regimen. British veterinary journal 130:380-387.
- 20 COSSEDU A.M., A. SPISSU, E.P.L. DE SANTIS & R. MAZETTE, 1994. Some microbiological causes of the increase in somatic cells in sheep's milk. Proc. Int. Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 21 CRUZ DE LA M., E. SERRANO, V. MONTORO, J. MARCO, M. ROMEO, R. BASELGA, I. ALBIZU & B. AMORENA, 1994. Etiology and prevalence of subclinical mastits in Manchega sheep at mid-late-lactation. Small Ruminant Res., 14, 175.

- 22 CUCCURU A.M., A.SPISSU, E.P.L. DE SANTI & R. MAZETTE, 1994. Some microbiological causes of the increase in somatic cell count in ewes: environmental, management and microbiological factors. Proc. Int. Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 23 DELACROIX-BUCHET A., BARILLET F., LAGRIFFOUL G., 1994. Lait 74, 173-186.
- 24 DEUTZ A., A. PERNTHANER, G. SCHLERKA & W. BAUMGARTNER, 1990. Undersuchungen über den zellgehalt der milch und die verbreitung bakteriell bedingter euterentzündungen in niederösterreichischen schaf und ziegenherben. Wien. Tierärzt. Mschr, 77, 3, 70-77.
- 25 DOHOO I.R. & LESLIE K.E., 1991. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicator of new intramammary infections. Preventive Vet. Medecine, 10, 225-237.
- 26 EITAM M., 1994. Direct and indirect detection of intramammary infection of the lactating ovine mammary gland. Proc. Int. Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 27 ESNAL A., M. ROMEO, B. XTRAMIANA, L. GONZALEZ & J.C. MARCO, 1994. Mamitis en la oveja Latxa : eficacia del tratamiento y dinamica de infeccion durante el periodo seco. Proc. XIX Jornadas Cientificas Sociedad Espanola Ovinotechnica Caprinotechnica, Burgos, Spain.
- 28 FABRE J.M., P. ROUSSE, D. CONCORDET & X.BERTHELOT, 1990. Relations entre comptages cellulaires individuels et production en élevage bovin laitier dans le sud-ouest de la France. Analyse critique des méthodes statistiques utilisées. Revue Méd. Vét., 1990, 141, 5, 361-368.
- 29 FABRE J.M., F. SERIEYS, 1994. Objectives and strategy of the dairy company with regard to quality management in milk collection. Rec. Med. Vet., 170, 6-7, 457-467.
- 30 FABRE J.M., H.MORVAN, B. LEBREUX, P. HOUFFSCHMITT, X. BERTHELOT, 1997. Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France. Partie 2 Mammites subcliniques. Bull. GTV., 5B, 573, 9-15.
- 31 FILEV F.,1972. Microbiologic studies of ewe's milk. VI. Cell count. Vet. Med. Nauki, 9, 5,27-32.
- 32 FRUGANTI G., S. RANUCCI, B.TESEI & C. VALENTE, 1985. Valutazione dello stato sanitario della mammella di pecore durante un intero ciclo di lattazione. Clin. Vet., 108, 4,, 286-296.
- 33 FTHENAKIS G.C. & J.E.T. JONES, 1990. Incidence and aetiology of clinical ovine mastitis in flocks in central Macedonia (Greece). Delt. Ellen. Kten. Etair, 41, 133-141.
- 34 FTHENAKIS G.C., E.T.S. EL-MASSANAT, J.M. BOOTH & J.E.T. JONES, 1991. Somatic cell counts of ewe's milk. Br. Vet. J., 147, 6, 575-581.
- 35 FTHENAKIS G.C., 1994a. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in ewes of southern Greece. Small ruminants Res., 13, 293-300.
- 36 FTHENAKIS G.C., 1994b. Use cell counts of ewe's milk. Proc. Int Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.

- 37 FTHENAKIS G.C., 1994c. Use of somatic cell counts or of indirect tests in milk for the diagnosis of subclinical mastitis in ewes. Proc. Int Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 38 GONZALEZ RODRIGUEZ M.C., GONZALO C., SAN PRIMITIVO F., CARMENES P., 1996. Relationship between somatic cell count and intrammary infection of the udder half in dairy ewes. Small rum. Res., 21, 245-250.
- 39 GONZALO C., E. VIJIL, P. SANCHEZ, J. RUIZ-POVEDA, C. CIUDAD & E. HURTADO, 1986. Evolucion y caracteristicas del calostro ovino (razas Manchega, Churra y Karakul). II : variacion del contenido cellular. Revista Esp. Lecheria, 9, 13-19.
- 40 GONZALO C., 1992. Variacion del contenido cellular en la leche de oveja. Ovis, 22, 49-62.
- 41 GONZALO C., J.A. BARO, J.A. CARRIERO & F. SAN PRIMITIVO 1993. Use of the Fossomatic method to determine somatic cell counts in sheep milk. J. Dairy Sci., 76, 115-119.
- 42 HAHN G., J. REICHMUT, H. KIRCHHOFF, P.HAMMER, E.-H. UBBEN & W. HEESCHEN, 1992. Anzahl und Bewertung somatischer Zellen in der Milch von Ziegen und Schafen. Archiv für Lebensmittelhygiene, 43, 86-89.
- 43 HEREDIA, F.B. DE & G. ITURRITZA, 1988. Medicina Veterinaria 5:33-38.
- 44 HUESTON W.D., G.L. BONER & S.L. BAERTSCHE, 1989. Intramammary antibiotic treatement at the end of lactation for prophylaxis and treatement of inramammary infections in exes. JAVMA, 194, 8, 1041-1044.
- 45 JIMENEZ J, A. SANCHEZ, C. LUENGO, J.C. CORRALES, A. CONTRERAS, 1999. Validez de la congelacíon de las muestras de leche para el diagnóstico de las mamitis subclínicas caprinas. Proc. Int. Symp. Mamitis y calidad de leche, Murcia, Espaòa, 18-19<sup>th</sup> october.
- 46 LAGRIFFOUL G., D. BERGONIER, X.BERTHELOT, M. JACQUIN, P. GUILLOUET & F. BARILLET, 1994. Facteurs de variation génétiques et non-génétiques des comptages de cellules somatiques du lait de brebis en relation avec les caractères laitiers et les mesures portant sur le lait du tank. Proc. Int. Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella, Italy, 25-27<sup>th</sup> september.
- 47 LAGRIFFOUL G., F. BARILLET, D. BERGONIER, X. BERTHELOT & M.JACQUIN, 1998. Relation entre les comptages de cellules somatiques du lait du troupeau et la prévalence des mammites subcliniques des brebis estimée avec les comptages de cellules somatiques individuels. Proc. Int. Symp. Milking and milk production of dairy sheep and goats, Athens, 26<sup>th</sup>September-1<sup>st</sup>October, Greece.
- 48 LAGRIFFOUL G., D. BERGONIER, J. BERNARD, F. MILLET, J.M. ARRANZ, X. BERTHELOT, F. BARILLET, 1999. Situación de los recuentos de células somáticas en leche de oveja en Francia. Proc. Int. Symp. Mamitis y calidad de leche, Murcia, Espaòa, 18-19<sup>th</sup> october.
- 49 LAS HERAS. A, J.F. FERNANDEZ-GARAYZABAL, E. LEGAZ, I. LOPEZ & L. DOMINGUEZ, 1998. Importance of subclinical mastitis in milking sheep and diversity of aetiological agents. Proc. Int. Symp. Milking and milk production of dairy sheep and goats, Athens, 26<sup>th</sup>September-1<sup>st</sup>October, Greece.

- 50 MACKIE D.P., & S.P. RODGERS, 1986. Mastitis and cell content in milk from Scottish blackface ewes. Vet. Rec., 109, 362-363.
- 51 MAMELI O. & A.M. COSSEDDU, 1973. Ricerche sul valore diagnostico delle contacitologica quanti- e qualitativa nel latte ovino, comparata all'esame batteriologico ed anatomoistopatologico. La Clin. Vet., 96, 12, 407-413.
- 52 MORGANTE M., S. RANUCCI, M. PAUSELLI, C. CASOLI & E. DURANTI, 1994. Total and differential cell counts in milk of healthy primiparous lactating Comisana ewes. Proc. Int Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 53 MURDOUGH P.A., K.E. DEITZ, J.W. PANKEY, 1996. Effects of freezing on the viability of nine pathogens from quarters with subclinical mastitis. J. Dairy Sci. 79, 334-336.
- 54 OTTO D., 1991. Studies on the importance of coagulase-positive and coagulase-negative Staphylococci in ewe mastitis. Vet. Med. Diss., Giessen, Deutschland, 132pp.
- 55 PAUSELLI M., M. MORGANTE, C. CASOLI, S. RANUCCI, E. DURANTI & H. MERHAB, 1992. Cratteristiche qualitative del latte ovino in relazione a diversi momenti orodutti e allo stato sanitorio delle mammella. (Qualitative characteristics of ovine milk in relation to different lactation stages and the udder health condition). Atti XXVII Simposio Intern. Zootec., Milano 3 aprile, Italia.
- 56 PELLEGRINI O., M.R. AUREL, G. LAGRIFFOUL, C. MARIE, F. REMEU F, M. RIVEMALE & F. BARILLET, 1994. Relations entre comptages de cellules somatiques, les caractéristiques physicochimiques et l'aptitude à la coagulation par la présure de laits individuels de brebis de race Lacaune. Proc. Int. Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 57 PIRISI. A, C.E. GASPARD, G. PIRELDA, A. JAUBERT & A. LEDDA, 1998. Relation entre CCS et les caractéristiques du lait de brebis et de chèvre. Proc. Int. Symp. Milking and milk production of dairy sheep and goats, Athens, 26<sup>th</sup>September-1<sup>st</sup>October, Greece.
- 58 RANUCCI S.; G. FRUGANTI & B. TESEI, 1985. Variazioni di alcune attivita enzimatiche nel secreto mammario di pecore in rapporto a momenti diversi selle lattazione ed allo stato sanitario della mammelle. Atti VI congresso S.I.P.A.O.C., Campobasso 10-12 ottobre, Italia.
- 59 REGI G., R. HONEGGER, S. BUCHI, V. SEGESSEMANN & P. RUSCH, 1991. Cell count and Schalm test results of milk from dairy sheep with healthy udders during the course of a complete lactation. Schweiz. Arch. Tierheilkd, 133, 2, 75-80.
- 60 RENEAU J.K., 1986. Effective Use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Counts in Mastitis Control. Journal of Dairy Science, 69:1708-1720.
- 61 ROMEO M., I. ESCOBAL, A. ESNAL, B.EXTRAMIANA, J.J. ARDURIZ & J.C. MARCO, 1994. Evolution of milk cell counts along the lactation period in sheep of the Latxa breed. Proc. Int. Symp. Somatic cell counts and Milk of Small ruminants, Bella 25-27<sup>th</sup> september, Italy.
- 62 SEEGERS H, J.L. MENARD & C. FOURRICHON, 1997. Mammite en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. In 4<sup>èmes</sup> Rencontres Recherches Ruminants, Paris, 4-5 décembre 1997, 233-242.

- 63 SERIEYS F. 1985. La numération des cellules du lait : interprétation pour le diagnostic et le suivi des infections mammaires. Rec. Med. Vet., 161, 6-7, 553-556.
- 64 SCHUKKEN Y.H, J.A.H. SMIT, F.J. GROMMERS, D. VANDEGEER, A. BRAND. 1989. Effect of freezing on bacteriologic culturing of mastitis milk samples. J. Dairy Sci. 72, 1900-1906.
- 65 TORRES-HERNANDEZ G. & W. HOHENBOKEN, 1979. Genetic and environmental effects on milk composition and mastits incidence in crossbred ewes. J. Anim. Sci., 49, 2, 410-417.
- 66 TYSKA Z., SKOLASINSKI W., CHARON K., 1983. Zaleznosc miedzy stanem zdrowotnym gruczolow mlekowych owiec a ich produkcyjnoscia. Biul. Inf. Zoot., 3, 36-39.
- 67 ZARZYCKI J., Z.J. TYSZKA & W SKOLASINSKI, 1983. Attemps to determine the physiological content of cell elements in ewe's milk. Med. Vet., 12, 39, 738-740.
- 68 ZIV G., A. SHACKED & R. RISENBERG-TIRER, 1968. The effectiveness of the California Mastitis Test as a measure of somatic cell counts of ewe's milk. Refuah Vet., 25, 179-184.

# THESES VETERINAIRES

- 69 FISCHER J.M. . Conséquence des mammites subcliniques bovines sur la quantité et la qualité du lait dans un grand troupeau, 46p. Thèse vétérinaire, Alfort, 1991.
- 70 FRAPSAUCE Y. . Pratiques d'élevage et infections mammaires chez la brebis : enquête épidémiologique dans 77 élevages laitiers des Pyrénées-Atlantiques et du Rayon de Roquefort, 115p. Thèse vétérinaire, Toulouse, 2000.
- 71 LAVERGNE V. . Contribution à l'étude de la qualité des fromages a pâte pressée non cuite fabriqués à partir de lait cru de vache, 210p. Thèse vétérinaire, Alfort, 1992.
- 72 MARCO MELERO J.C. . Mammites chez la brebis laitière, 398p. Thèse vétérinaire, Saragosse, 1994.
- 73 MOURON D. . Qualité cellulaire du lait et infections mammaires de la brebis, 232p. Thèse vétérinaire, Toulouse, 1996.
- 74 PHILIPPON C. 1991. Bactériologie et traitement des mammites de la vache laitière : étude bibliographique et résultats d'enquête, 241p. Thèse vétérinaire, Toulouse, 1991.

# LISTE DES ANNEXES

Annexe II 1 . Objectii II 3 du projet europeen prenonnatii * FAIK // II 90.0001	02
Annexe n°2 : Définition des 6 critères bactériologiques	64
Annexe n°3 : Les règles de décision du statut infectieux de la mamelle (Classification n°1)	66
Annexe n°4 : Les règles de décision du statut infectieux de la mamelle (Classification n°2)	68

# ANNEXE n°1

# Objectif n°3 du projet européen prénormatif « FAIR » n°98.0881.

## Définition de seuils individuels de CCS

La définition des valeurs physiologiques et pathologiques de CCS individuels permettra de dépister les femelles saines (exemptes d'infections mammaires) des femelles infectées (porteuses d'infections mammaires) et d'apprécier individuellement l'efficacité des mesures de contrôle des infections. Les travaux actuellement publiés proposent des seuils physiologiques, variables selon les études, pour la brebis et la chèvre, mais la définition de seuils pathologiques reste encore incertaine.

Le projet propose donc d'étudier, chez la brebis et la chèvre, les relations entre CCS et bactériologie par demi-mamelle selon un protocole harmonisé (suivi des animaux, analyse de laboratoire...) pour l'ensemble des équipes de façon à permettre, dans un premier temps, les comparaisons et le traitement global des données ainsi produites et, dans un second temps, la généralisation des seuils de CCS issus de l'analyse des données, quels que soient les races, les bassins de production, les systèmes d'élevage...

Les relations entre CCS de demi-mamelle et de mamelle (CCS individuels) seront également établies.

# ANNEXE n°2

# DEFINITION DES 6 CRITERES BACTERIOLOGIQUES UTILISES POUR LE CLASSEMENT DES DEMI-MAMELLES

	Saine ou infection brève	Douteuse	Infection durable
Critère 1	Tout stérile ou 1 contaminé ou 1 polybactérien	1 SCN ou 2 SCN différents consécutifs ou non	> ou = 2 SCN identiques consécutifs ou non ou > ou = 3 SCN différents consécutifs ou non
Critère 2	Tout stérile ou x contaminés ou x polybactériens	1 SCN ou 2 SCN différents consécutifs ou pas ou 2 SCN identiques consécutifs ou non	> ou = 3 SCN différents consécutifs ou non ou > ou = 3 SCN identiques consécutifs ou non
Critère 3	Tout stérile ou x contaminés ou x polybactériens ou 1 SCN quelque soit le nombre de UFC	2 SCN identiques consécutifs ou non ou 2 ou 3 SCN différents consécutifs ou non	> ou = 3 SCN identiques consécutifs ou non ou > ou = 4 SCN différents consécutifs ou non
Critère 4	Tout stérile ou x contaminés ou x polybactériens ou < ou = 2 SCN différents consécutifs ou non ou 2 SCN identiques mais non consécutifs (séparés/2 analyses bactériologiques négatives) et toujours quelque soit le nombre de UFC	2 SCN identiques consécutifs ou séparés/1 analyse bactériologique négative ou 3 SCN différents consécutifs ou non	> ou = 3 SCN identiques consécutifs ou non ou > ou = 4 SCN différents consécutifs ou non
Critère 5	Tout stérile ou x contaminés ou x polybactériens ou 2 SCN identiques consécutifs ou non ou < ou = 3 SCN différents consécutifs ou non et toujours quelque soit le nombre de UFC	3 SCN identiques non consécutifs ou 4 SCN différents consécutifs ou non ou	> ou = 3 SCN identiques consécutifs ou > 4 SCN différents consécutifs ou non ou > ou = 2*2 SCN consécutifs avec 2*2 germes différents
Critère 6	Tout stérile ou x contaminés ou x polybactériens ou 3 SCN identiques non consécutifs ou < ou = 3 SCN différents consécutifs ou non et toujours quelque soit le nombre de UFC	3 SCN identiques consécutifs ou 4 SCN différents consécutifs ou non ou 2*2 SCN consécutifs avec 2*2 germes différents	> 3 SCN identiques consécutifs ou 4 SCN différents consécutifs ou non ou > 2*2 SCN consécutifs avec 2*2 germes différents

# ANNEXE n°3

# CLASSIFICATION N°1: MEILLEURES SENSIBILITES, SPECIFICITES ET VP3

# Règles de décision présentant les meilleures sensibilités avec les premiers CCI

Critères	Nb CCS	N°CCS	(S.inf,S.sup)	(x,y)	Sens (%)	VG (%)	Spé (%)	X (%)	VP1 (%)	VP2 (%)	VP3 (%)
			$(300,900)*10^3$		85.7	75.4	70.0	5.9	75.4	10.0	78.6
C5	4	1,2, 3 et 4	$(400,900)*10^3$	(2,1)	85.7	76.3	72.1	5.9	75.9	14.3	78.6
			$(500,900)*10^3$		85.7	76.3	72.1	5.9	74.3	25.0	78.6
			$(300,1000)*10^3$		85.8	74.9	70.6	5.0	76.5	9.1	77.3
			$(400,900)*10^3$		86.3	75.4	71.3	5.0	76.7	14.3	76.7
C6	4	1,2, 3 et 4	$(400,1000)*10^3$		85.8	75.7	72.7	5.0	77.0	12.5	77.3
			$(500,900)*10^3$		86.3	75.4	71.3	5.0	75.0	25.0	76.7
			(500,1000)*10 <sup>3</sup>		85.8	75.7	72.7	5.0	75.4	20.0	77.3

## Règles de décision présentant les meilleures spécificités avec les premiers CCI

Critères	Nb CCS	N°CCS	CS (S.inf,S.sup)		Spé	VG	Sens	X	VP1	VP2	VP3
Cilleres	ND CC3	N CC3	(S.IIII,S.Sup)	(x,y)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
C4	2	2 2 ot 4	(400,1100)*10 <sup>3</sup>		86.8	70.8	74.3	0.0	56.8	0.0	86.0
C4	C4 3 2, 3 et	2, 3 et 4	$(500,1100)*10^3$		86.8	70.8	74.3	0.0	56.8	0.0	86.0
C5	2 2 2 2 4	2 2 ot 4	$(400,1200)*10^3$		88.0	72.3	71.4	0.0	61.0	0.0	86.5
CS	C5 3 2, 3 et 4	(500,1200)*10 <sup>3</sup>	(2,1)	88.0	72.3	71.4	0.0	60.6	0.0	86.5	

# Règles de décision présentant les meilleures VP3 avec les premiers CCI

Critères	Nb CCS	N°CCS	(S.inf,S.sup)	(x,y)	VP3 (%)	VG (%)	Sens (%)	Spé (%)	X (%)	VP1 (%)	VP2 (%)
			(300,1100)*10 <sup>3</sup>		(1.7)		71.4	( ,	(,,,	62.0	` '
C4	3		$(400,1100)*10^3$	,	86.5	72.3	71.4	88.0	0.0	61.0	0.0
		$(500,1200)*10^3$		86.5	72.3	71.4	88.0	0.0	60.6	0.0	

# ANNEXE n°4

# CLASSIFICATION N°2: MEILLEURES SENSIBILITES, SPECIFICITES ET VP2

# Règles de décision présentant les meilleures sensibilités avec l'ensemble des CCI à disposition

Critères	Nb CCS	N°CCS	(S.inf,S.sup)	(x,y)	Sens (%)	VG (%)	Spé (%)	X (%)	VP1 (%)	VP2 (%)	VP3 (%)
			(300,1000)*10 <sup>3</sup>	(2,2)	89.3	61.6	67.5	41.7	84.0	51.5	44.6
		$(400,1000)*10^3$	(1,2)	89.3	60.4	62.0	45.7	86.3	49.6	44.6	
			$(400,900)*10^3$		89.3	60.1	68.1	37.0	82.8	50.0	42.4
C6	4	1, 3, 4 et 6	$(400,1000)*10^3$	(2,2)	89.3	62.4	70.6	40.2	83.3	53.1	44.6
			$(500,1000)*10^3$	(1,2)	89.3	61.6	66.3	43.3	85.0	51.4	44.6
		ĺ	$(500,900)*10^3$	(2,2)	89.3	60.4	68.7	37.0	83.0	50.5	42.4
			$(500,1000)*10^3$	(2,2)	89.3	62.7	71.2	40.2	83.5	53.7	44.6

# Règles de décision présentant les meilleures spécificités avec l'ensemble des CCI à disposition

Critères	Nb CCS	N°CCS	(S.inf,S.sup)	(x,y)	Spé (%)	VG (%)	Sens (%)	X (%)	VP1 (%)	VP2 (%)	VP3 (%)
					(70)	(70)	(70)	(70)	(70)	(70)	(70)
C5	3	3, 4 et 6	$(500,1200)*10^3$	(2,2)	82.8	65.3	62.9	44.9	74.7	57.0	54.2
C5	3	4, 5 et 6	(500,1100)*10 <sup>3</sup>		82.8	62.1	62.9	36.2	69.1	56.8	50.6
C5	3	3, 4 et 7	(400,1000)*10 <sup>3</sup>		82.8	65.0	64.5	43.3	77.8	59.1	46.5
			$(500,1000)*10^3$		82.8	64.7	64.5	42.5	77.4	58.7	46.5
C6	3	4, 5 et 6	(500,1100)*10 <sup>3</sup>		82.2	62.1	64.3	35.4	71.3	55.6	46.8

## Règles de décision présentant les meilleures VP2 avec l'ensemble des CCI à disposition

Critères	Nb CCS	N°CCS	(S.inf,S.sup)	(x,y)	VP2 (%)	VG (%)	Sens (%)	Spé (%)	X (%)	VP1 (%)	VP3 (%)
C3	4	1, 2, 3, 4	(400,900)^10°		61.5	62.4	74.7	72.1	44.1	75.9	48.46
	5	1, 2, 3, 4 et 8			62.0	62.7	75.9	71.4	44.9	76.9	48.4
C4	4	1, 2, 3, 4			61.5	62.4	74.7	72.1	44.1	76.0	48.4
	5	1, 2, 3, 4 et 8			62.0	62.7	75.9	71.4	44.9	76.9	48.4

#### Toulouse 2002

Nom, Prénom : MOLES Yannick

Titre : Dépistage des mammites subcliniques chez la brebis laitière. Définition de seuils opérationnels de comptages individuels de cellules somatiques.

### Résumé :

Un suivi bactériologique et cytologique de 709 demi-mamelles de brebis laitières a été réalisé sur les campagnes 1994-1995 et 1996-1997 dans le Rayon de Roquefort et dans les Pyrénées Atlantiques.

Les 5426 analyses microbiologiques ont mis en évidence que 60% des prélèvements étaient stériles, les staphylocoques ont représenté 33% des isolements et parmi ceux-ci, 80% étaient des staphylocoques à coagulase négative (SCN).

Les SCN les plus fréquemment isolés ont été *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus simulans* qui ont respectivement représenté 30, 15 et 15% des isolements staphylococciques.

La définition et l'utilisation de 6 critères bactériologiques ont permis de classer les demimamelles suivies en « saines », « douteuses » ou « infectées » au vu des résultats d'analyses bactériologiques sur l'ensemble de la campagne laitière considérée.

Le statut infectieux des brebis a ensuite été défini à partir des statuts de chacune des demimamelles d'un animal.

Le statut infectieux a été mis en relation avec les résultats de comptages de cellules somatiques (CCS) afin de proposer un outil opérationnel de dépistage des mammites subcliniques.

Cet outil consiste en des règles de décision à 2 seuils prenant en considération tout ou partie des comptages de cellules individuels réalisés durant la lactation. A titre d'exemple, l'une de ces règles propose de considérer comme infectée une brebis présentant 1 ou plusieurs CCS supérieurs à 1 million de cellules par mL.

Après validation par confrontation à différentes situations de prévalence des mammites subcliniques, ces règles de décision pourraient être utilisées dans le cadre de programmes de maîtrise des comptages de cellules de troupeau.

Mots clés : Brebis laitière. Infections mammaires. Etiologie. Dépistage. Comptages de cellules somatiques. Qualité du lait.

English title: Screening subclinical mastitis in the dairy ewe. Establisment of individual somatic cells counts operating thresholds.

### Abstract:

A bacteriological and cytological follow-up of 709 dairy ewes udders halves has been done during 1994-1995 and 1996-1997 in the production areas of Roquefort and Atlantic Pyrenees.

The 5426 microbiological analysis showed that 60% of the samples were negative, staphylococci represented 33% of isolations and among them 80% were coagulase negative staphylococci (CNS).

The most frequently isolated CNS were *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus simulans* which respectively represented 30, 15 and 15% of staphylococcal isolations.

The creation and the use of 6 bacteriological criteria allowed us to classify the udders halves according to « healthy », « uncertain » or « infected ».

Then we defined the infectious status of each ewe by the status of its 2 udders halves.

We confronted the infectious status with the results of SCC to create an operational tool for screening subclinical mastitis.

That way consists in 2-threshold decision rules considering all or part of the ICC realised during the lactation. For example, one of these rules suggests to consider as « infected » a ewe presenting one or several SCC over than one million cells per mL.

These rules need to be validated via a confrontation with different subclinical mastitis prevalence values.

These rules might be used for herd SCC control.

Key words: Dairy ewe. Intramammary infections. Aetiology. Screening. Somatic cells counts. Milk quality.