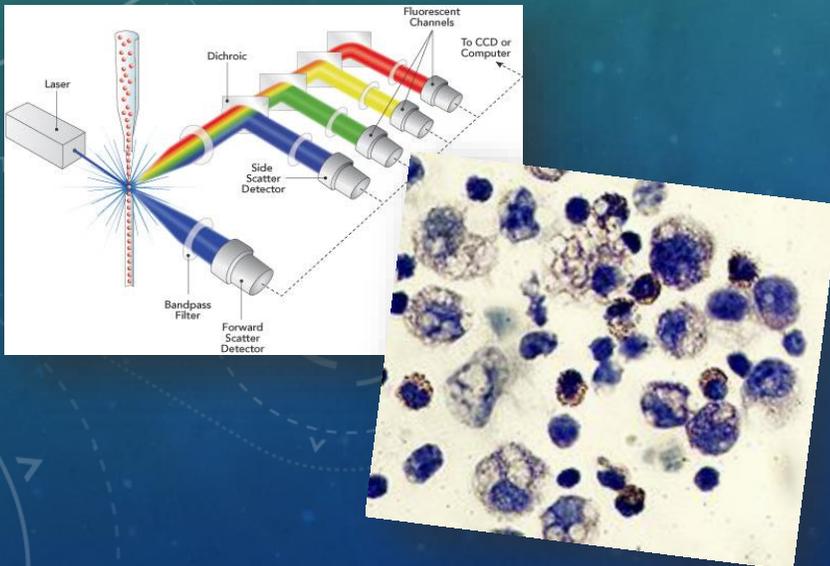


# LE COMPTAGE DIFFÉRENTIEL DES CELLULES SOMATIQUES

## UNE APPROCHE CYTOLOGIQUE DU LAIT



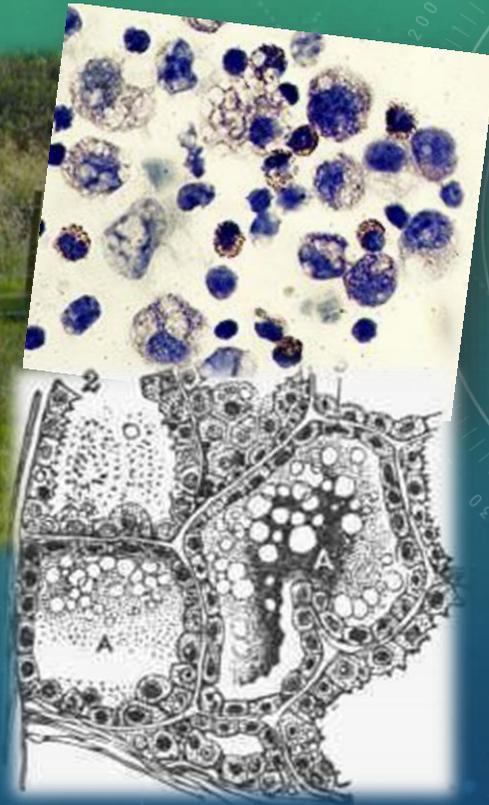
Dr. L. Theron

Technical and marketing manager Hipra

Consultant RumeXperts



N° 1



CELLULES DU LAIT

MAMMITE SUBCLINIQUE... OUI, MAIS....

# QUELLES SONT LES CELLULES DU LAIT?

- 0 à 7 % de lactocytes



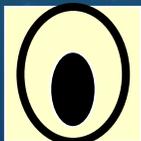
- 93 à 100 % de leucocytes



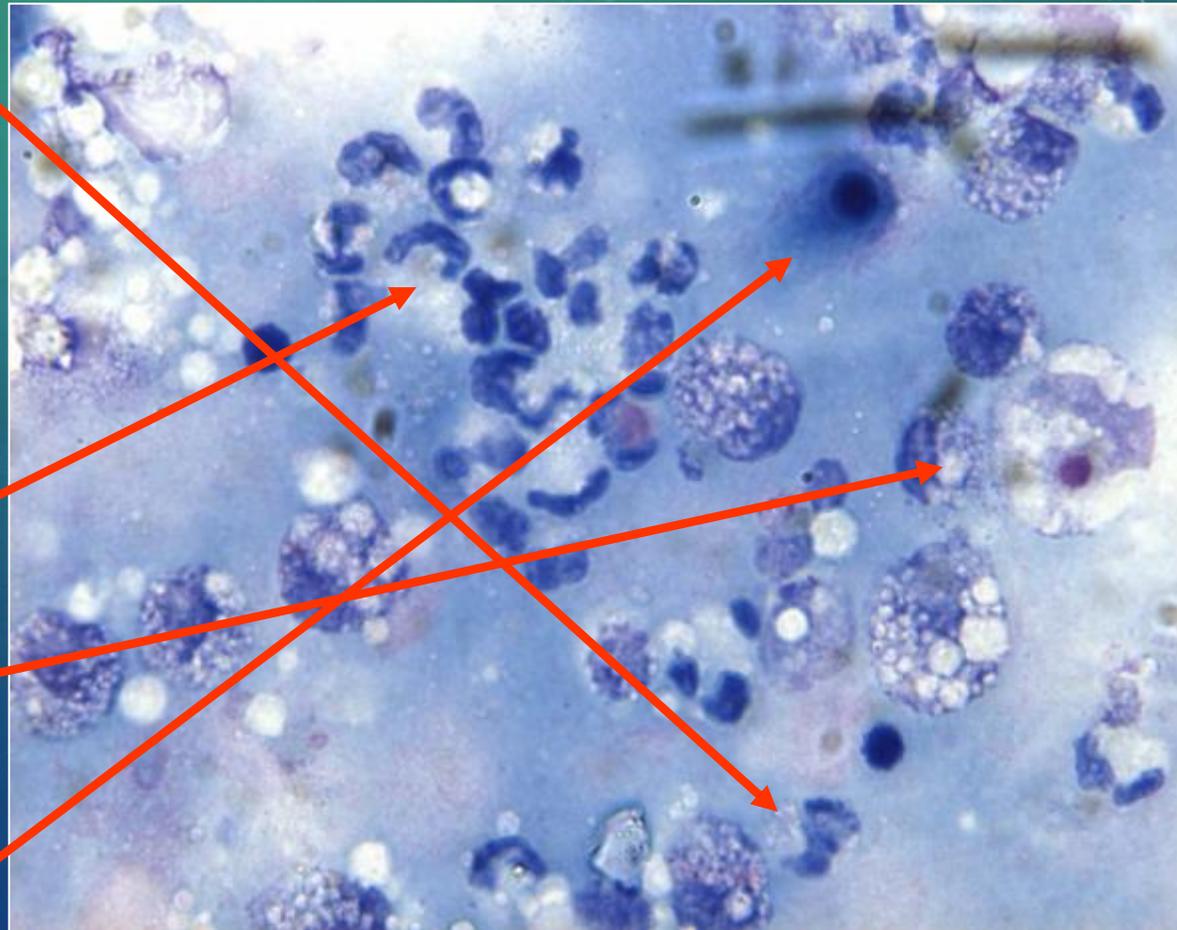
- 1 à 12 % de PMN



- 58 à 88 % de macrophages

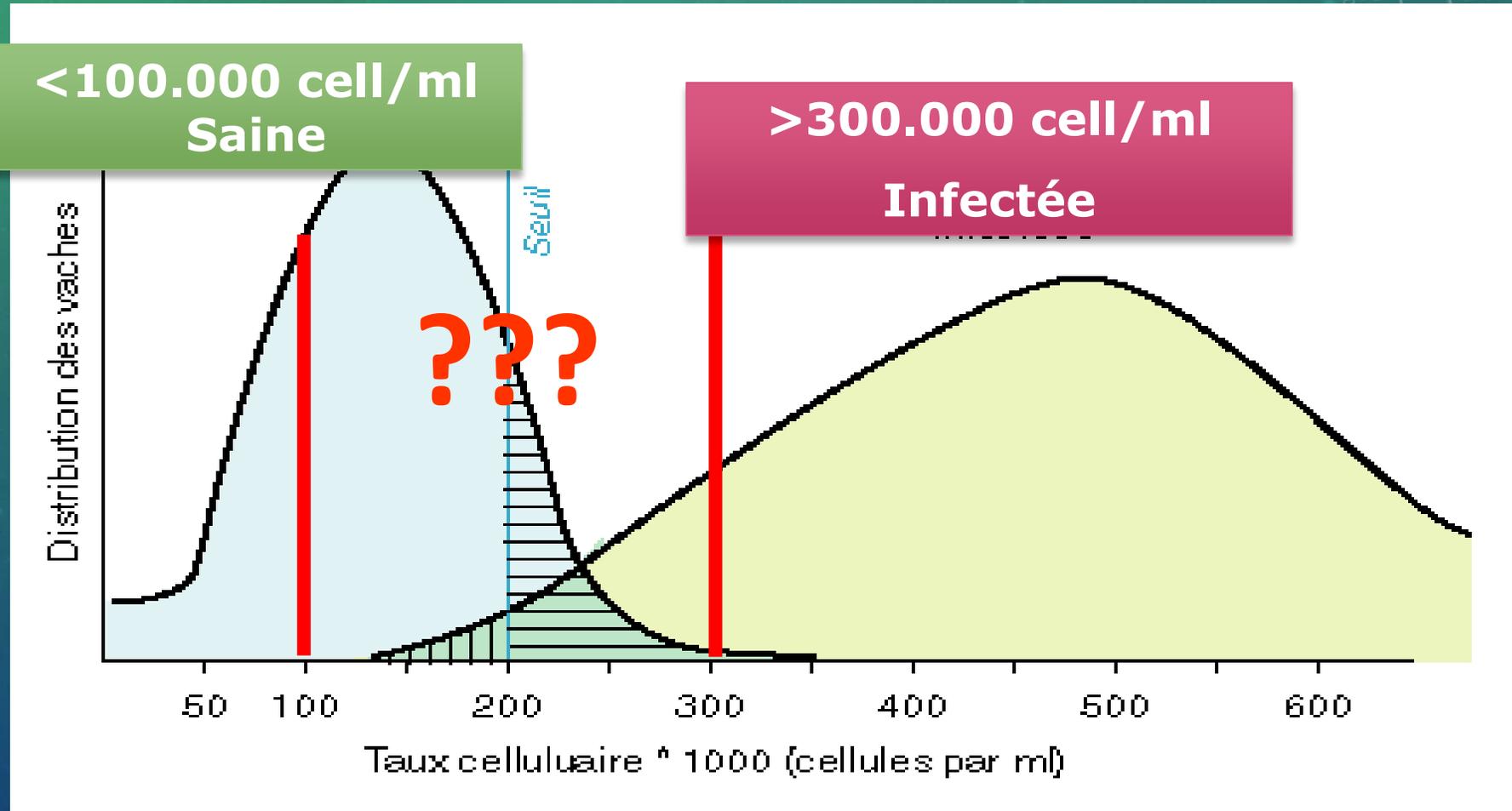


- 10 à 28 % de lymphocytes



# COMPTAGE CELLULAIRE

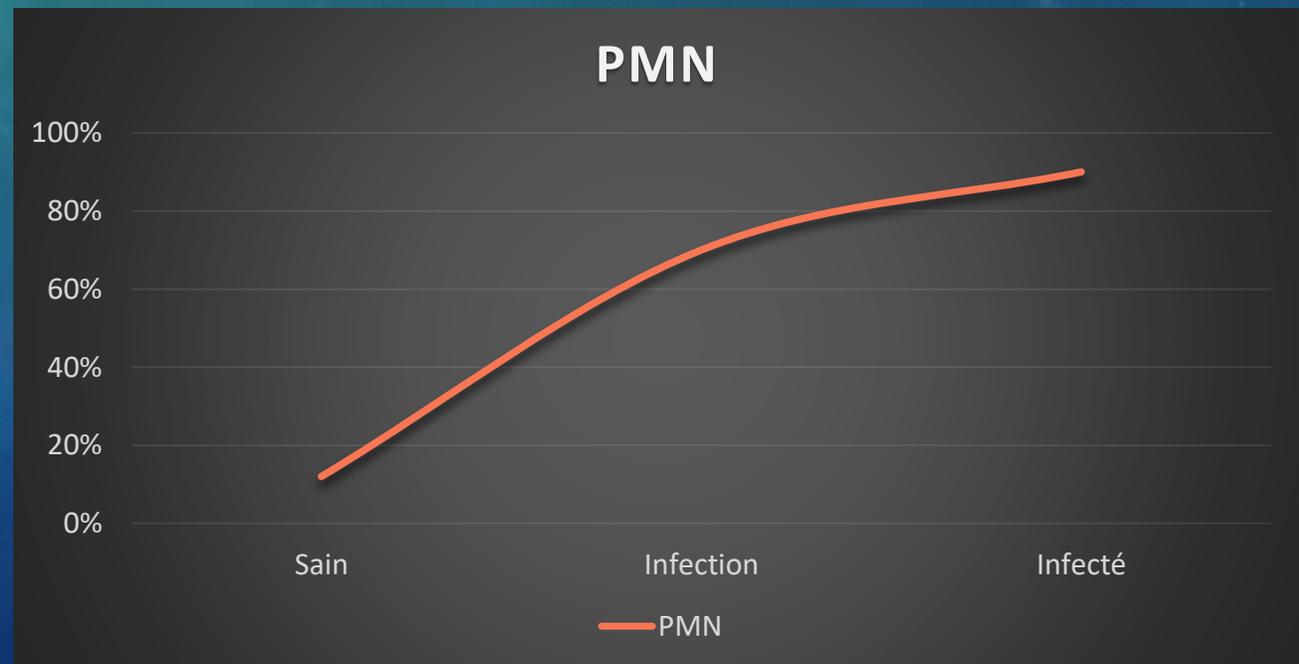
- Heureusement!



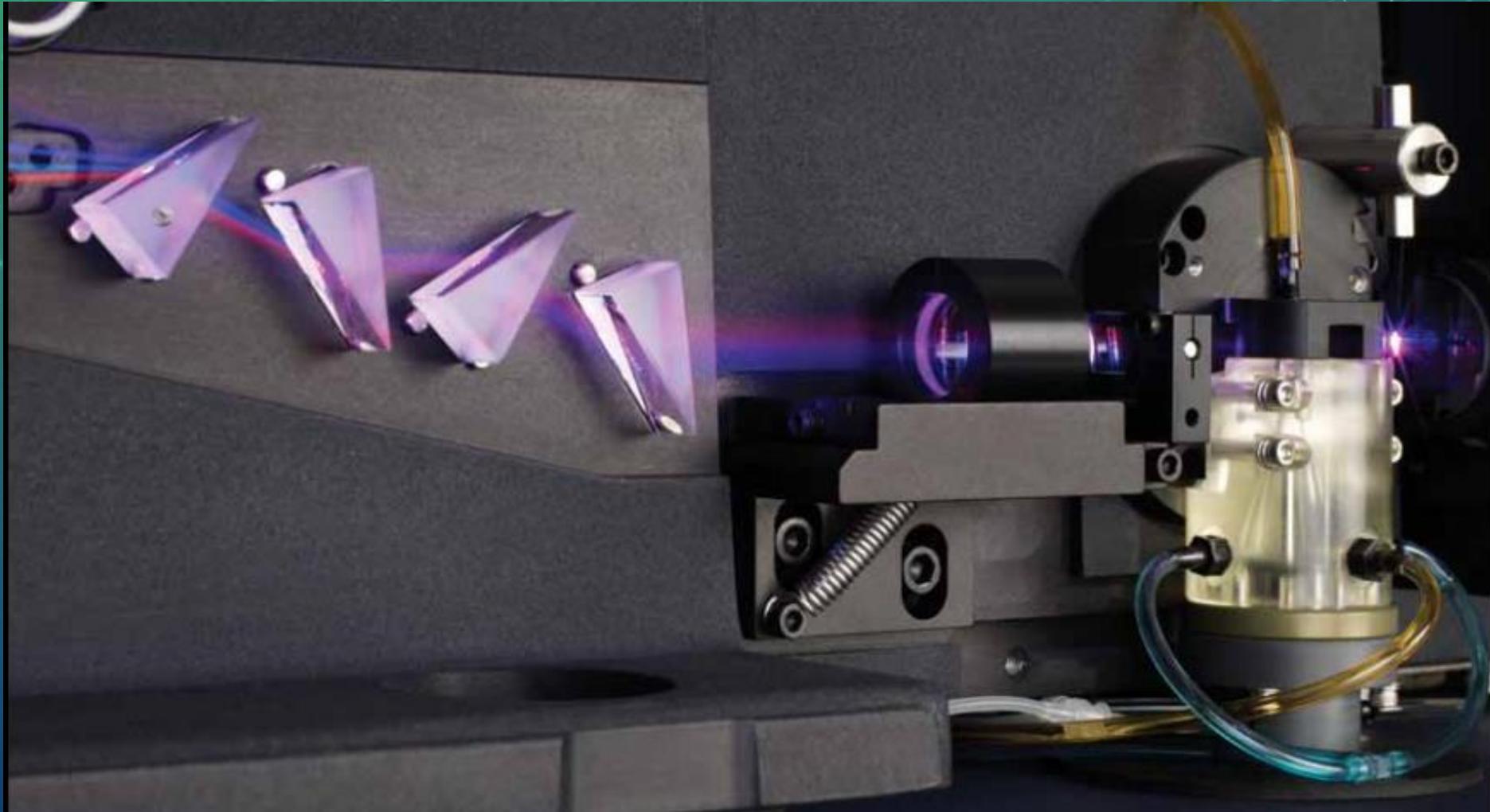
- Frustrant...

# EN MAMMITE?

- Cellules du système immunitaire
- 70.000 en moyenne par ml de lait dans un quartier sain (5.000 à 300.000)
  - Insuffisant pour faire face à une infection
  - Inefficaces quand présentes dans le lait depuis plusieurs heures

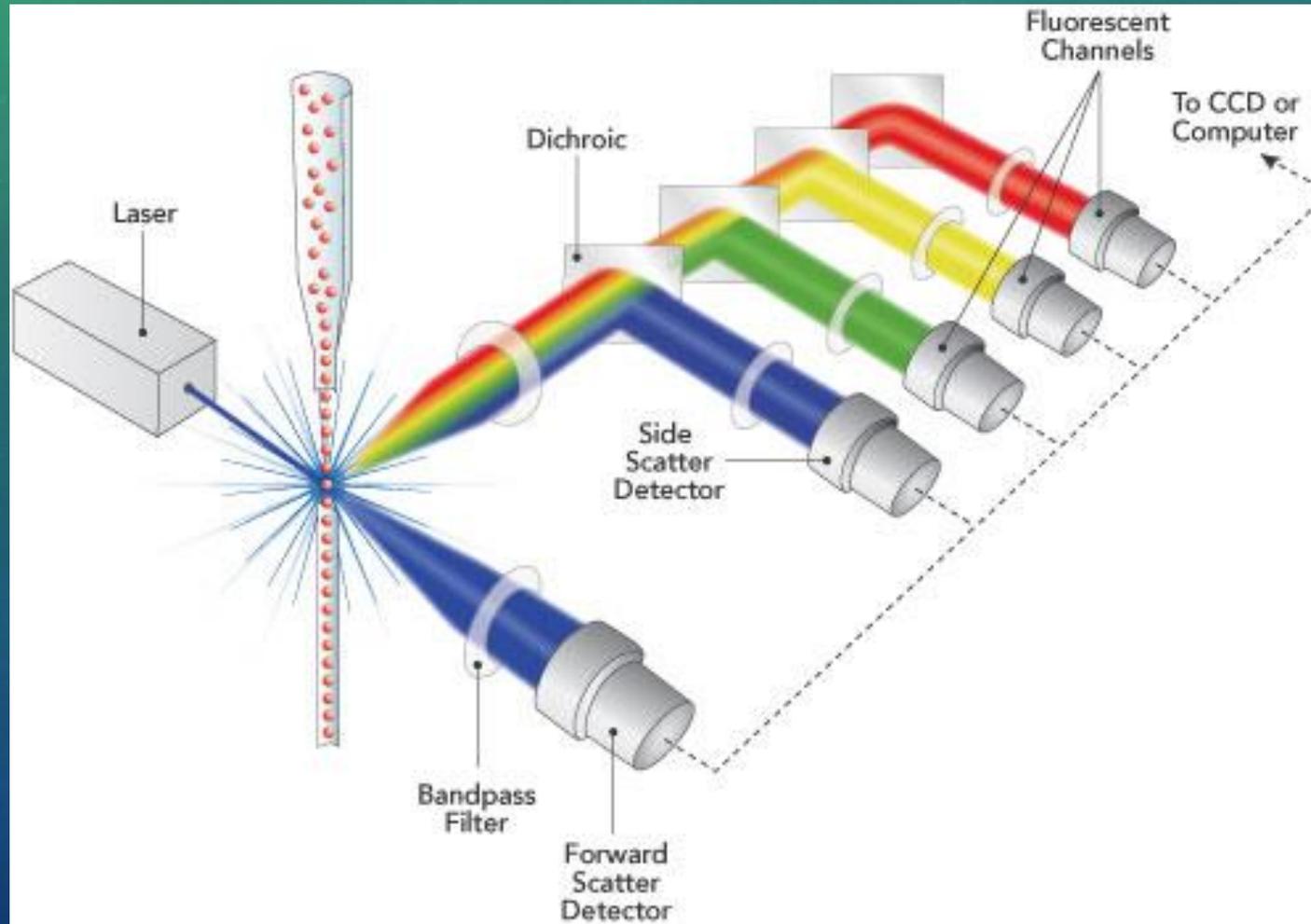


# COMPTAGE DIFFÉRENTIEL - CYTOLOGIE



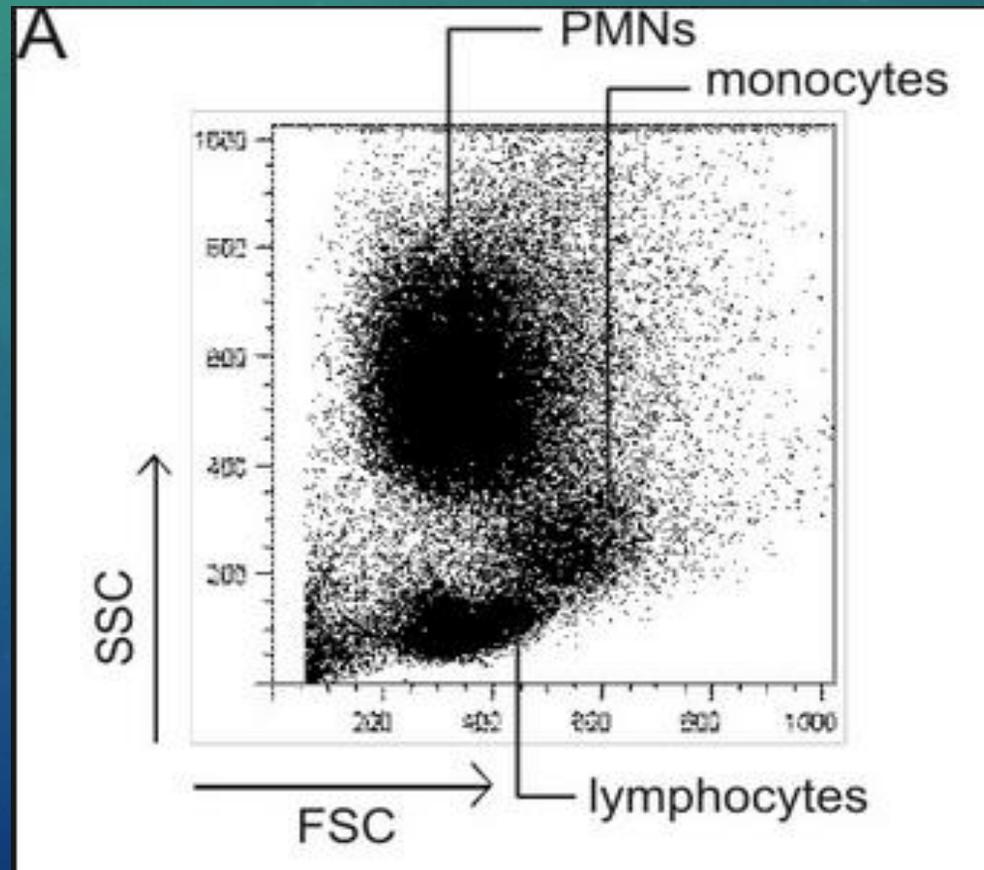
# IDENTIFICATION DIFFÉRENTIELLE PAR MARQUAGE

populations par leur fluorescence dans un groupe homogène du point de vue morphologique.



# CYTOMÉTRIE EN FLUX

- Taille
- Granularité



# IDENTIFICATION DIFFÉRENTIELLE PAR MARQUAGE

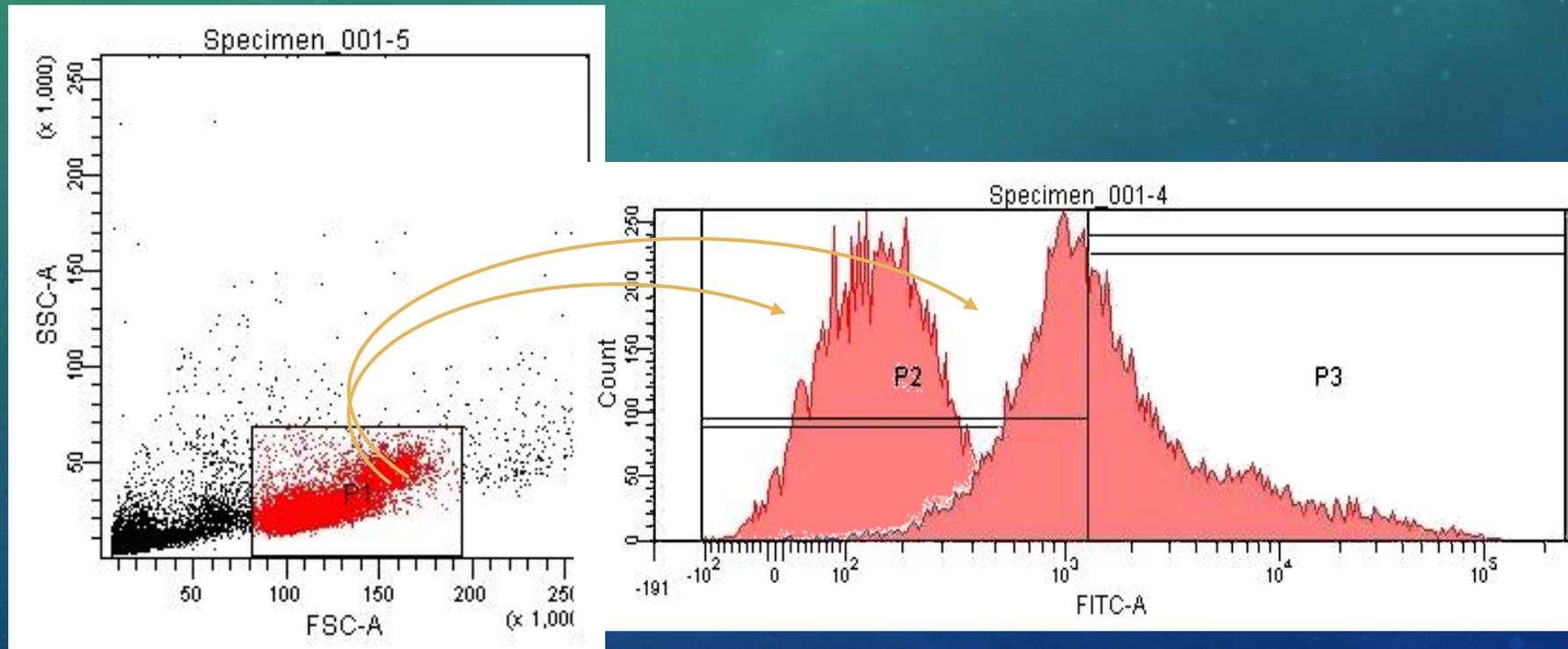


Figure 4 - Utilisation d'un marqueur fluorochrome FITC membranaire pour différencier deux sous-populations dans une classe morphologique (Théron et al.)

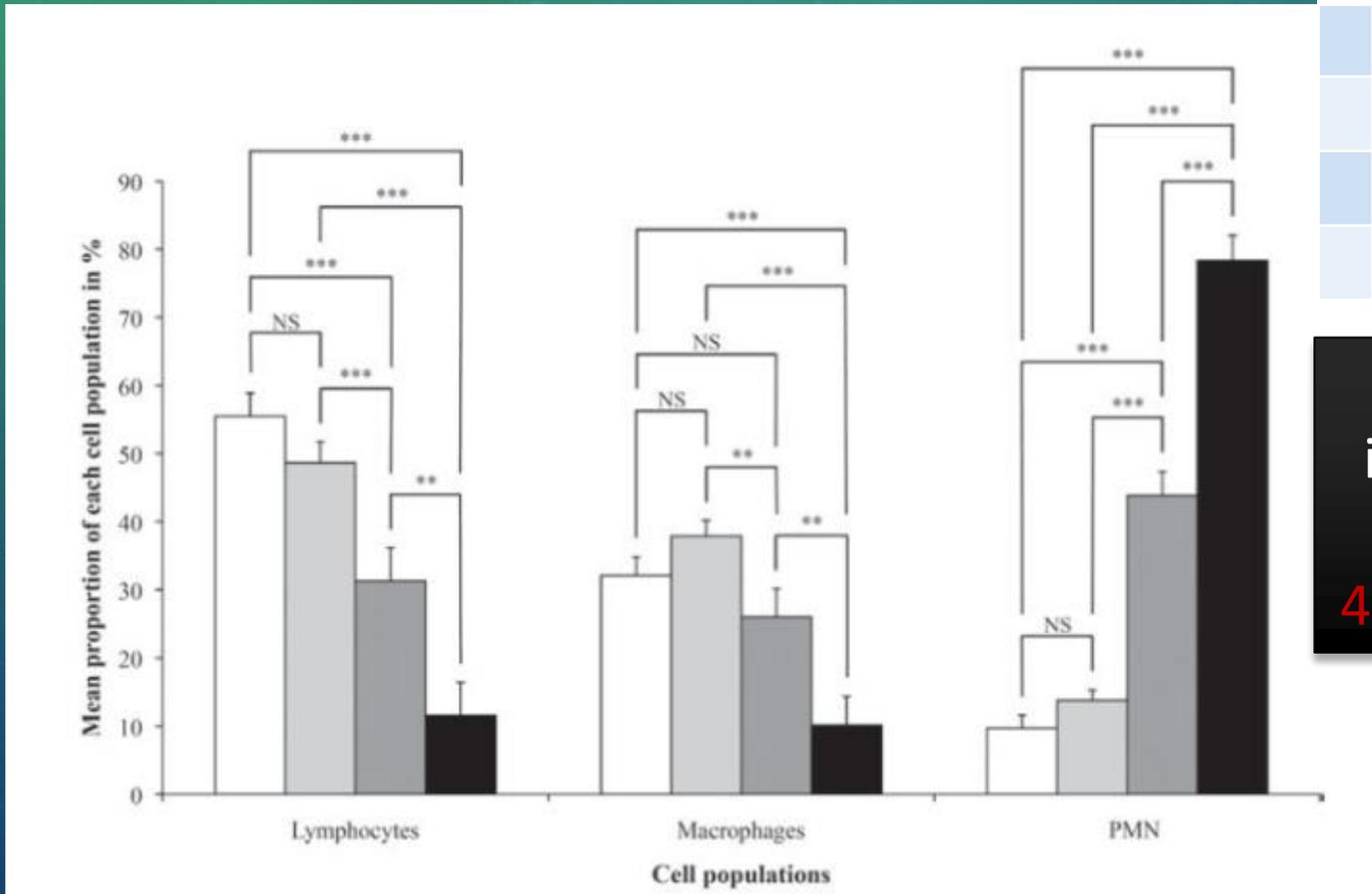
# EN FONCTION DES COMPTAGES CELLULAIRES

(SCHWARZ ET AL. 2011)

Lymph

Macro

PMN



Par quartier :  
Cellules/ml ( $\times 10^3$ )

<6,2

{6,2 - 25}

25-100

>100

Profil  
inflammatoire à  
partir de  
**43000 cellules/ml**

# PROFILS INFLAMMATOIRES? (PILLA ET AL., 2013)

Cut-off PMN/Lympho

**0,495**

Se **75.7%** Sp **92.3%**

En combinant SCC et

Ratio :

Se **93%**

	Moyenne	SD
Lymphocytes	30.1%	19.4%
Macrophages	26.9%	15.7%
PMN	43.1%	23.5%
Ratio PMN/Lympho	<b>0.22</b>	0.62
Ratio Phago/Lympho	0.48	0.53

Tableau II - Profil inflammatoires par comptage différentiel, incluant les ratios de populations (Pilla et al., 2013) <sup>N° 11</sup>

# LYMPHO-CYTOLOGIE... (SCHWARZ ET AL. 2013)

- Lymphocytes bovins :
  - Lympho T (CD2+)
    - Alpha/bêta
      - CD4+ (Helper)
      - CD8+ (T-cytotoxique et supresseurs)
    - Gamma/delta : ... ???...
  - Lympho B (CD21+)
- Ratio  $L_T/L_B$  pour évaluer la l'immunité adaptative



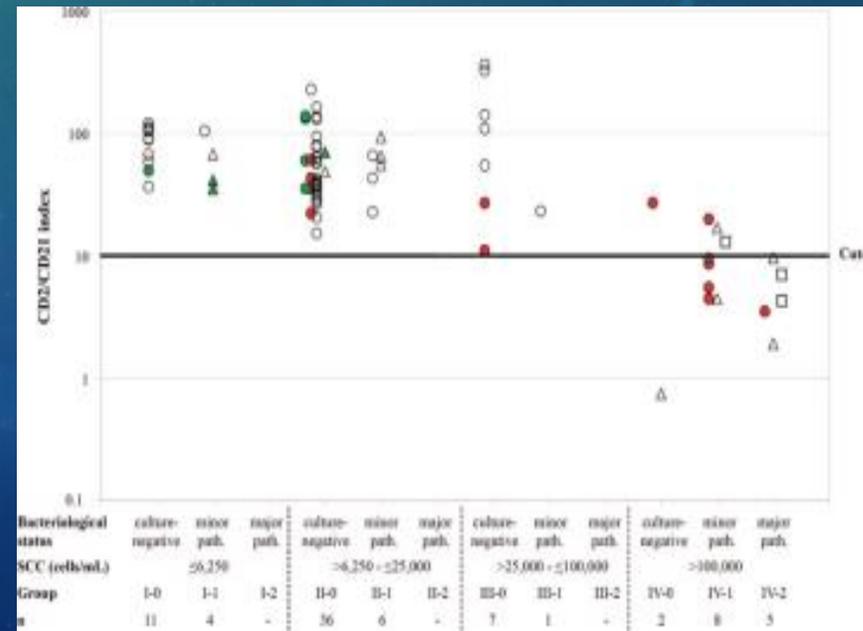
# LYMPHO-CYTOLOGIE... (SCHWARZ ET AL. 2013)

Etude 1 (n = 80)	SCC (*10 <sup>3</sup> cellules/ml)	CD2	CD21	CD2/CD21
<b>Moyenne</b>	86	52%	2%	63
<b>SD</b>	233	22%	1%	64

Ratio CD2/CD21

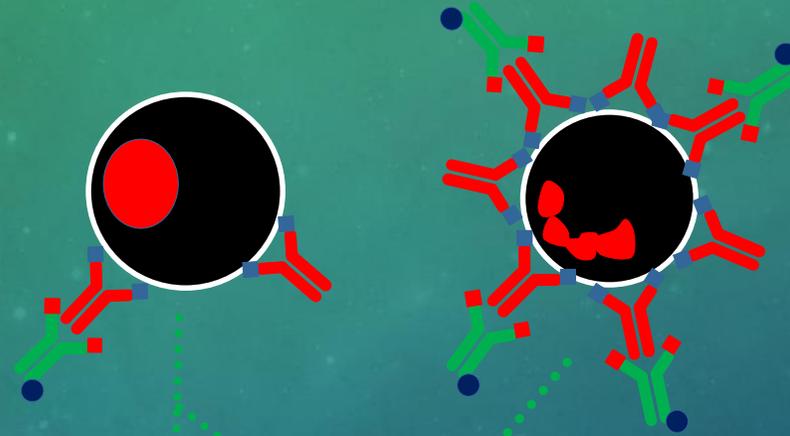
**<10**

= Infection récente ou présente

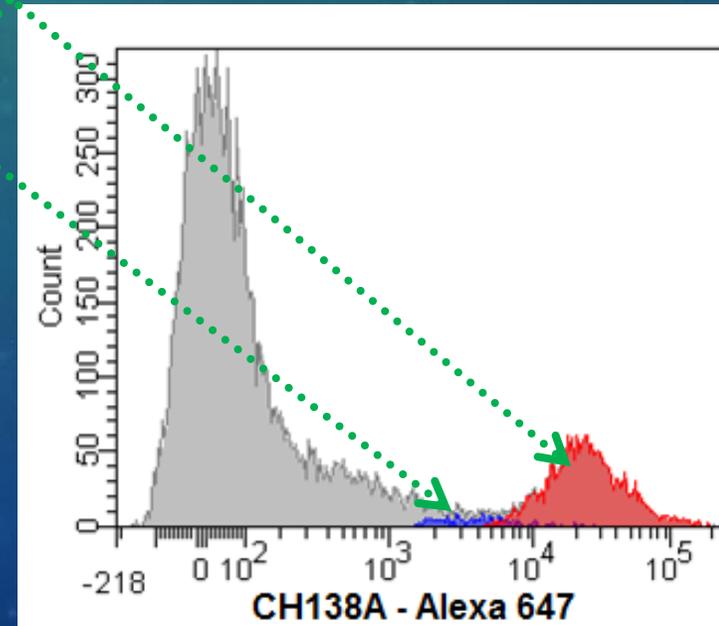
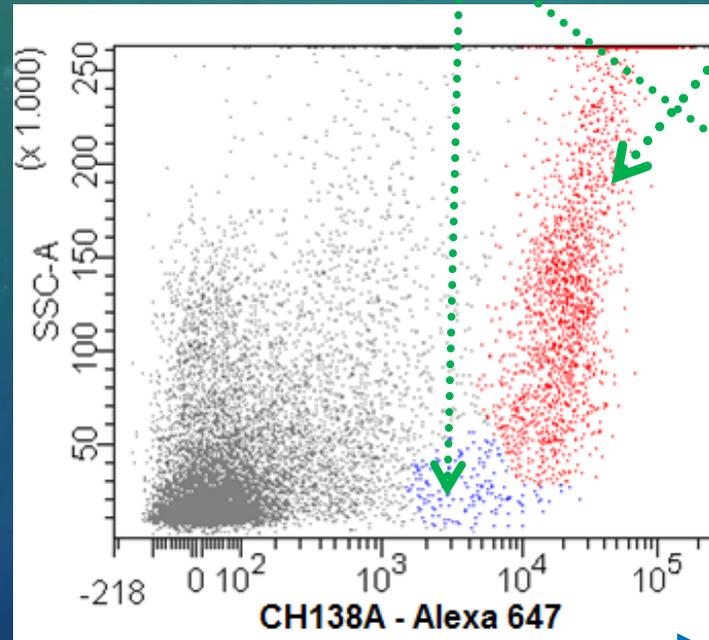


# VIABILITÉ CELLULAIRE (PIEPERS ET AL. 2009)

CCI bas



Granularity



Intensity

(Chapter 5.1)

# VIABILITÉ CELLULAIRE (PIEPERS ET AL. 2009)

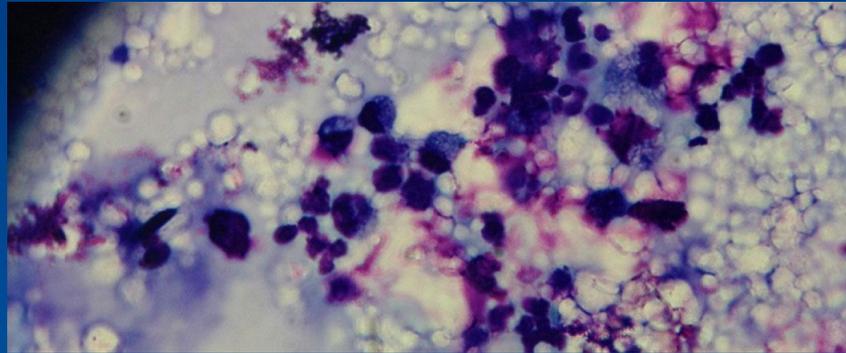
- Grandes variations
- Dans le lait
  - Saison de vêlage: Avril mai Juin : **Viabilité ▼**
  - Supplémentation **minérale/vitamines**: **viabilité ▲**
  - Présence de **SCN** sur les trayons : **viabilité ▲**
- Dans le sang
  - Saison de vêlage : Avril mai Juin : **Viabilité ▼**
  - Perte importante de **poids** : **Viabilité ▼**
  - Supplémentation **minérale/vitamines**: **viabilité ▲**

CONCRÈTEMENT?

*PASSONS À LA PAILLASSE...*



# NOUVELLE TECHNOLOGIE FOSS





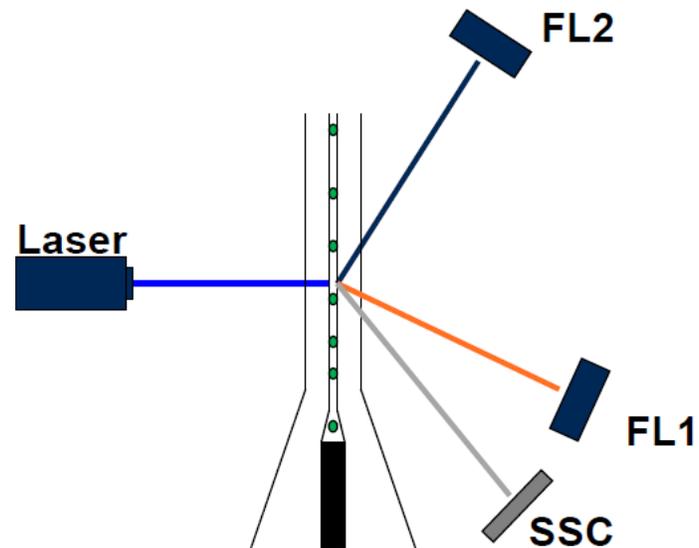
# NOUVELLE TECHNOLOGIE FOSS

New chemistry



Incubation unit

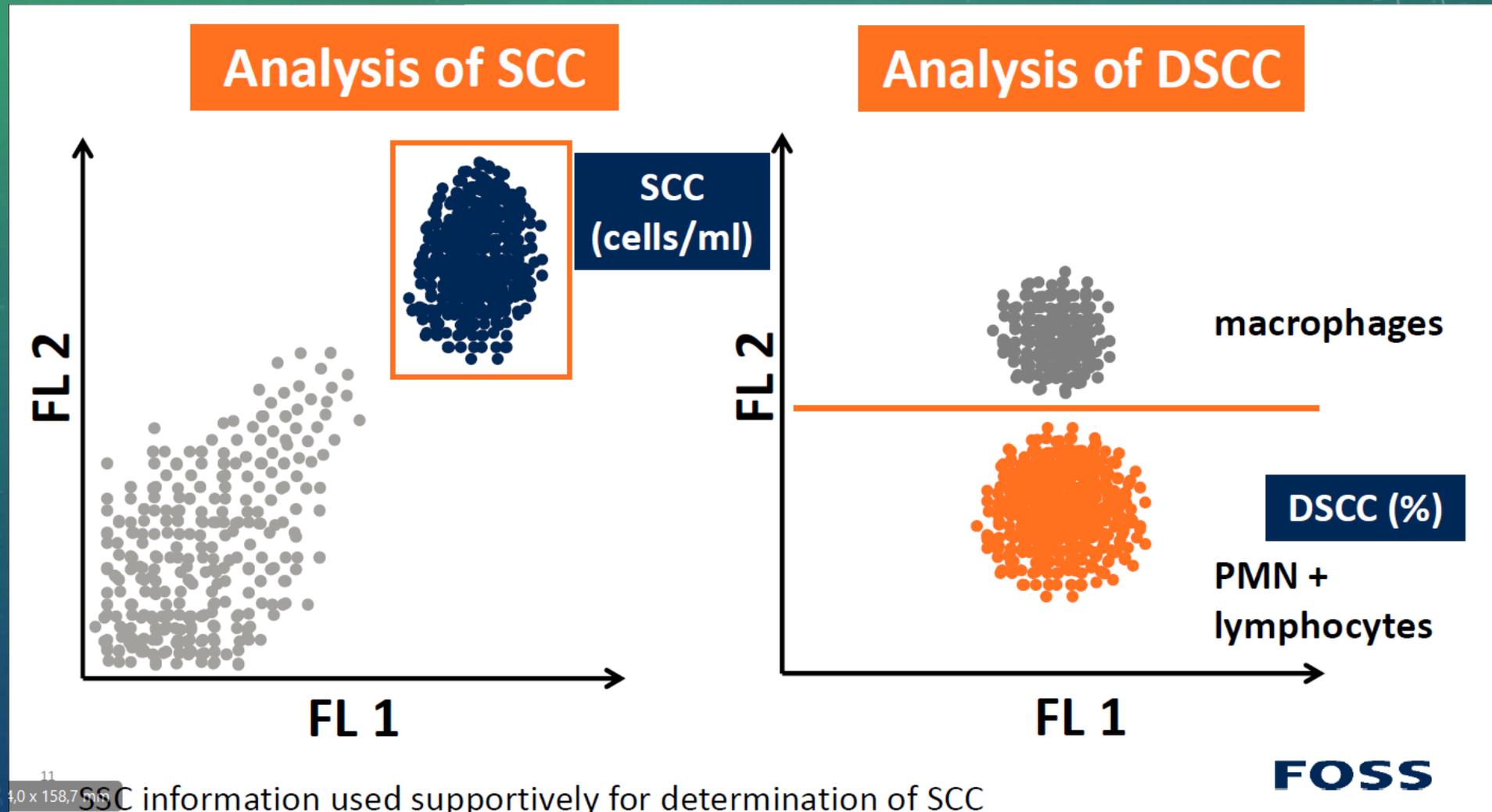
New measuring unit



Patented technology

**FOSS**

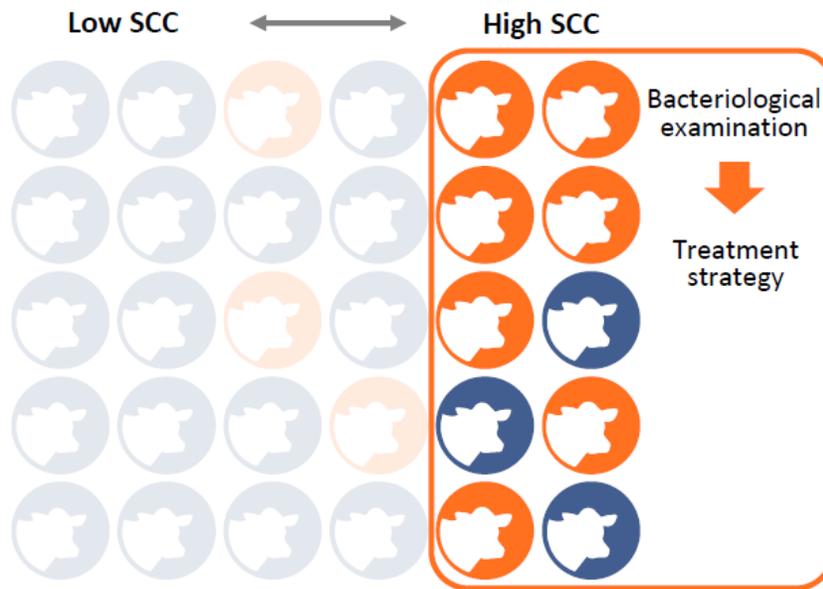
# TAUX DE MACROPHAGES



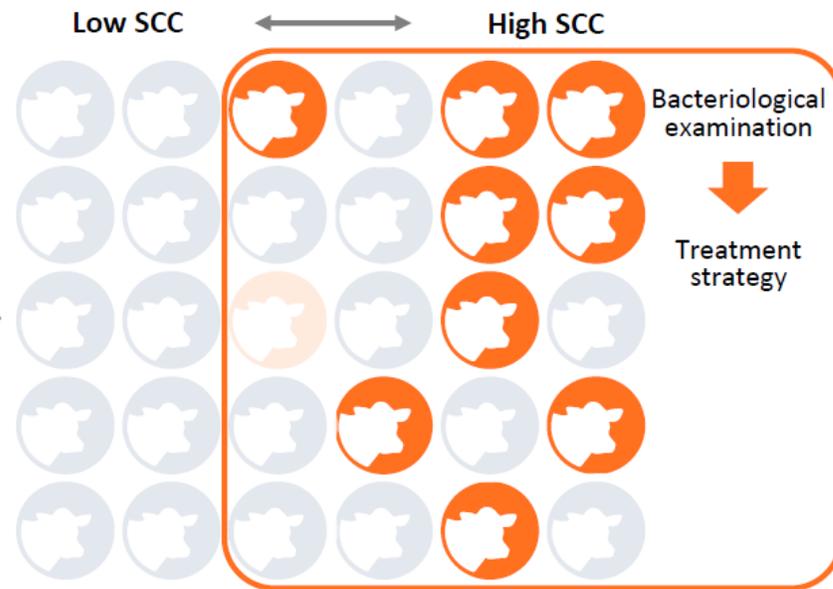
# OPPORTUNITÉS

## Sélection des vaches suspectées de mammites subcliniques?

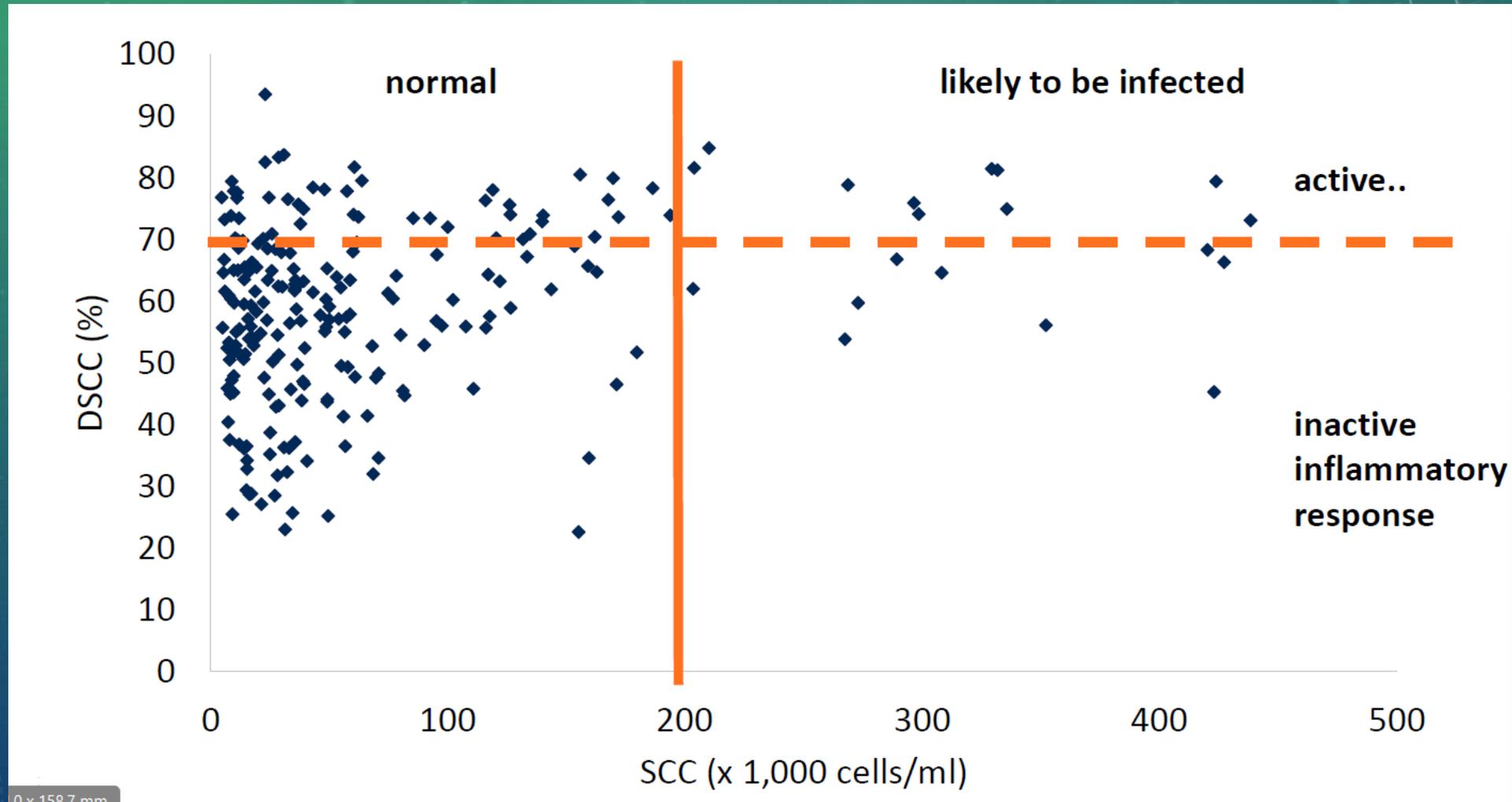
Aujourd'hui >200



Demain > 100 + DSCC

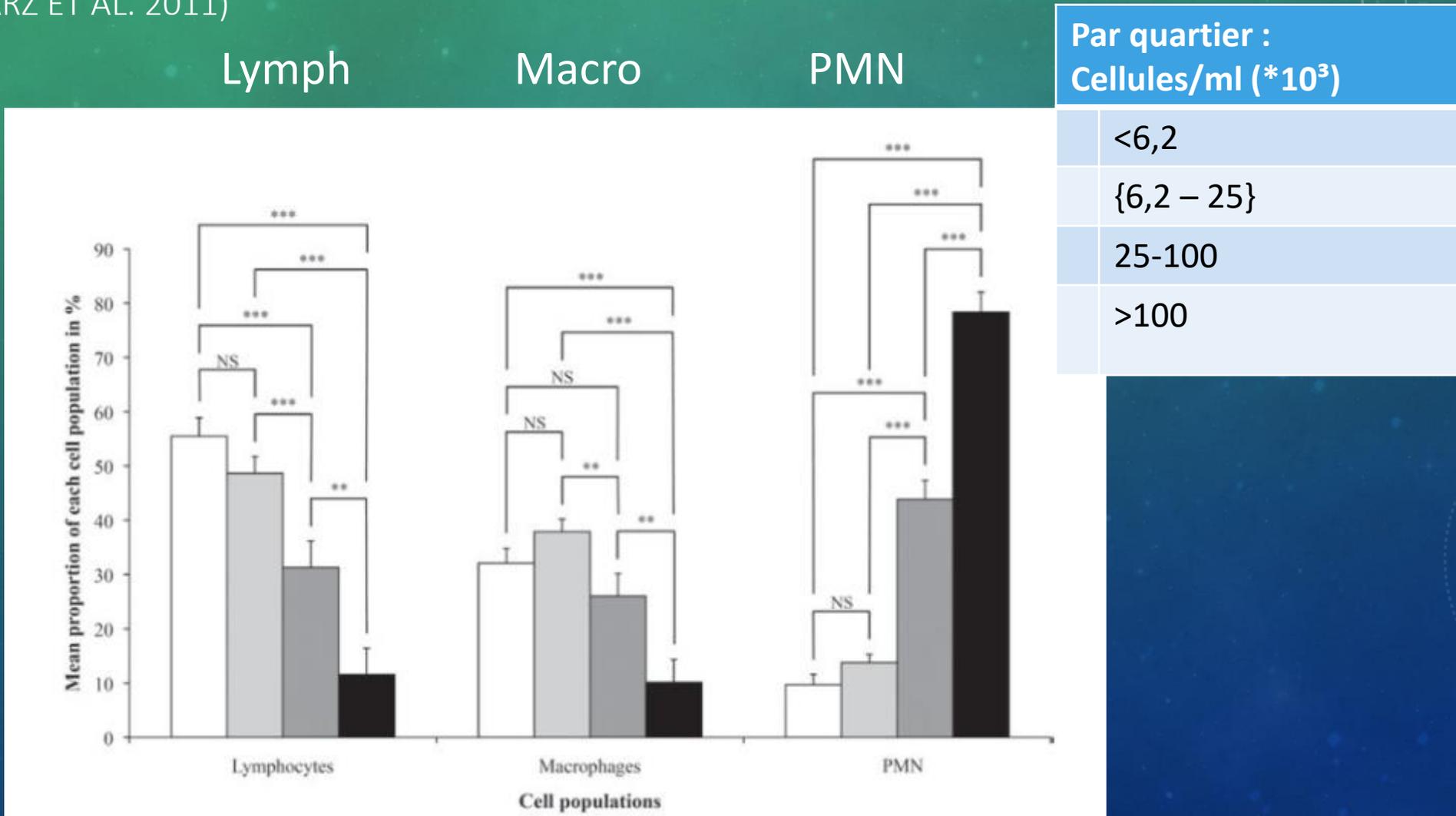


# PROPOSITION FOSS



# EN FONCTION DES COMPTAGES CELLULAIRES

(SCHWARZ ET AL. 2011)





# ET EN WALLONIE, ÇA DONNERAIT QUOI?

ETUDE CDL-AWÉ-RUMEXPERTS/ULIEGE



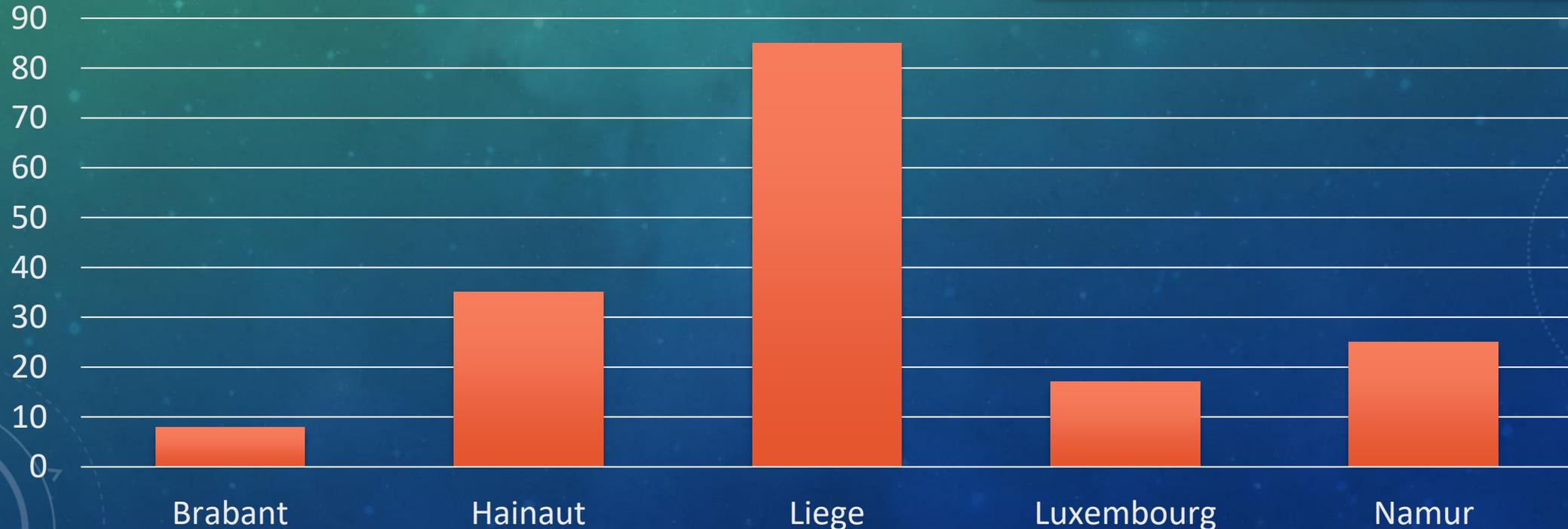
# ETUDE PILOTE OSAM



	Moyenne	Écart-type	Minimum	Maximum	
Fermes	170	66,9	34,3	12	215

Dataset	
Exploitations	170
Animal test-day	34971
Average	205
Mastitis n=	120
DSCC n=	11518

## Origine des fermes



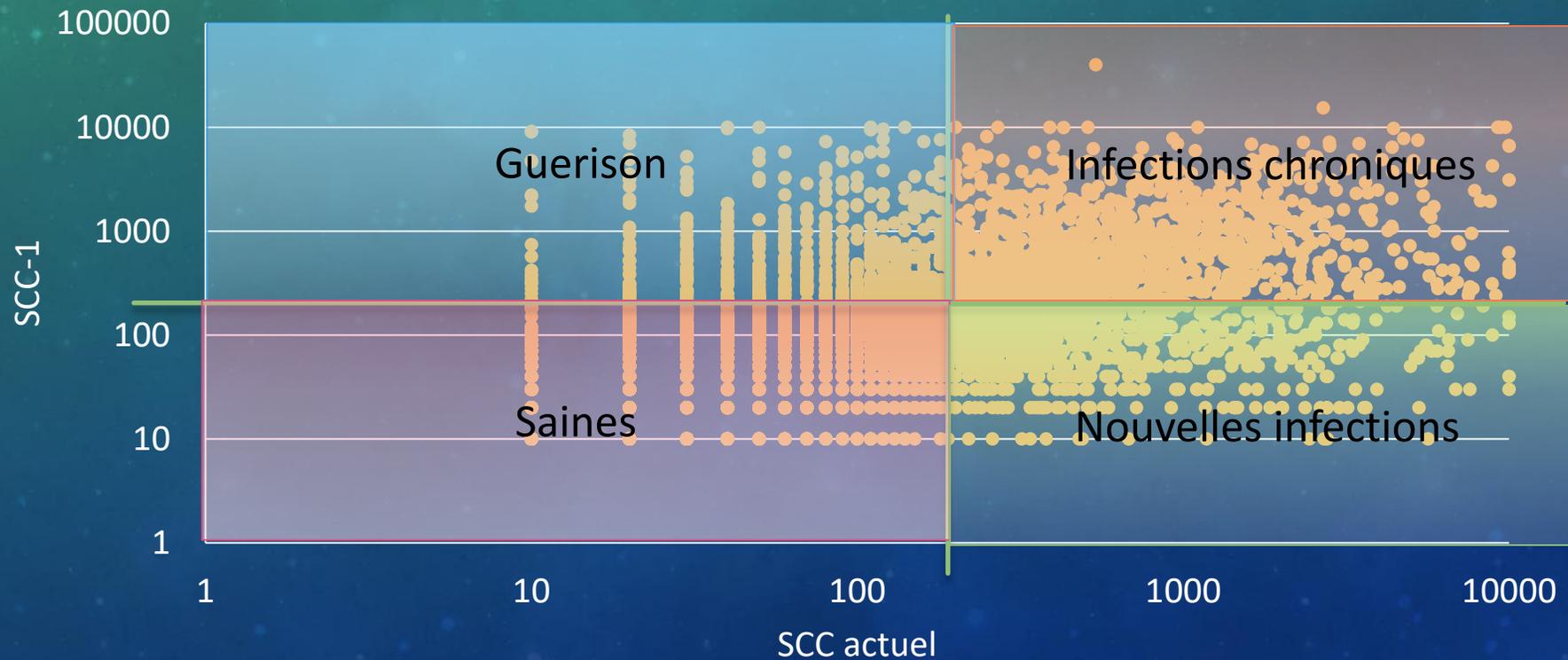
# ETUDE PILOTE OSAM



	Moyenne	Écart-type	Minimum	Maximum
Fermes	170	66,9	34,3	215

Convention :  
Mammite subclinique  
Primipare > 150  
Multipare > 250

Evolution des comptages cellulaires



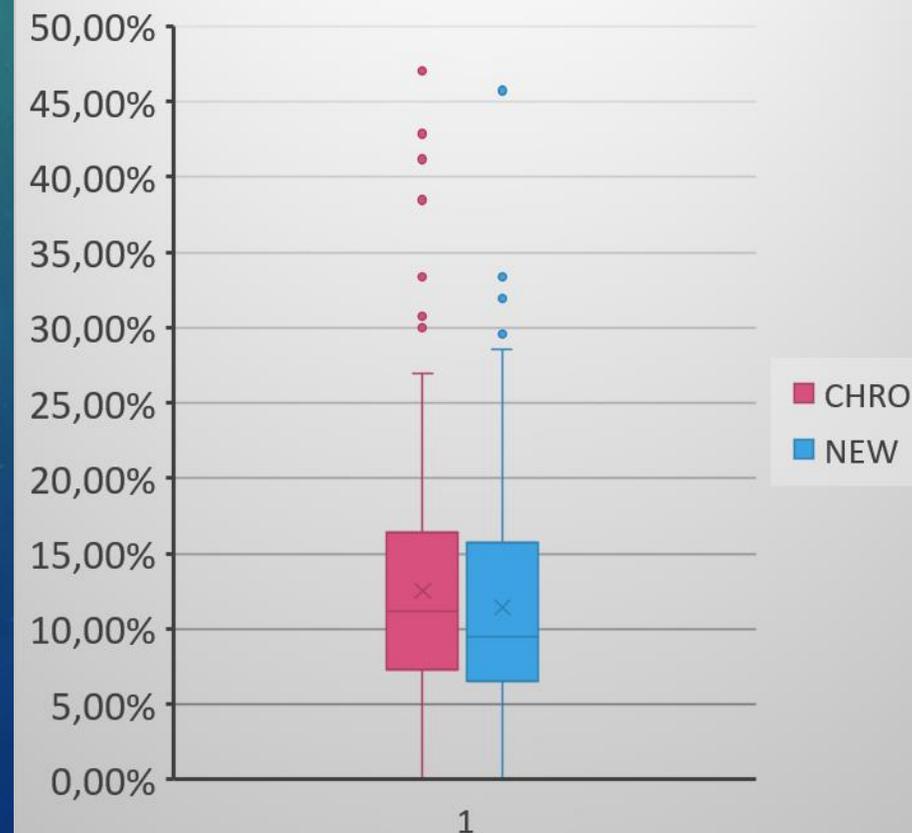
# LA COHORTE OSAM

	Moyenne	Écart-type	Minimum	Maximum
Fermes	170	66,9	12	215

Taux de mammite subclinique : **24 +/- 4%**  
 Nouvelles : **11 +/- 3,5%**  
 Chroniques : **13 +/- 4%**

Analyses de base :  
 Mammites subcliniques  
**20,3%** des primipares  
**25%** des multipares

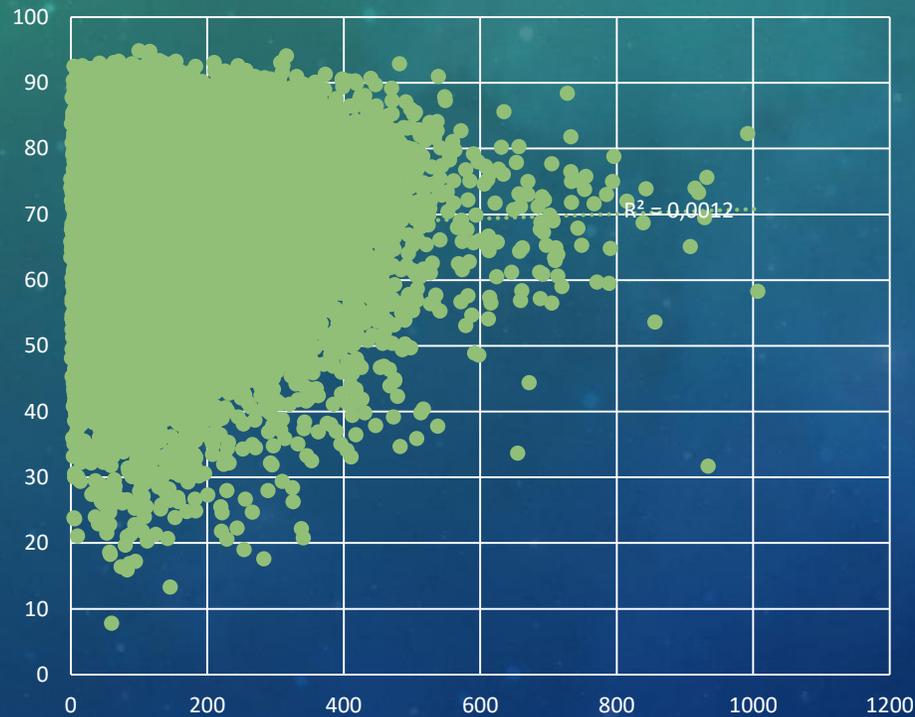
### Epidemiologie des mammites subcliniques



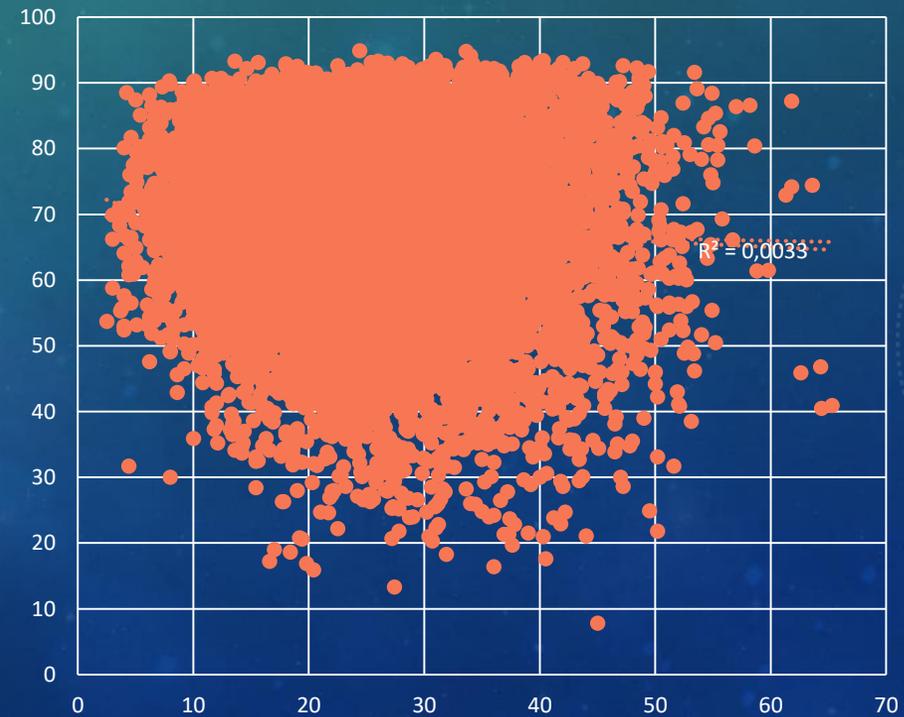
# ETUDE PILOTE OSAM

- DSCC sans lien avec
  - Production,
  - Jour en Lait,
  - Lactation.

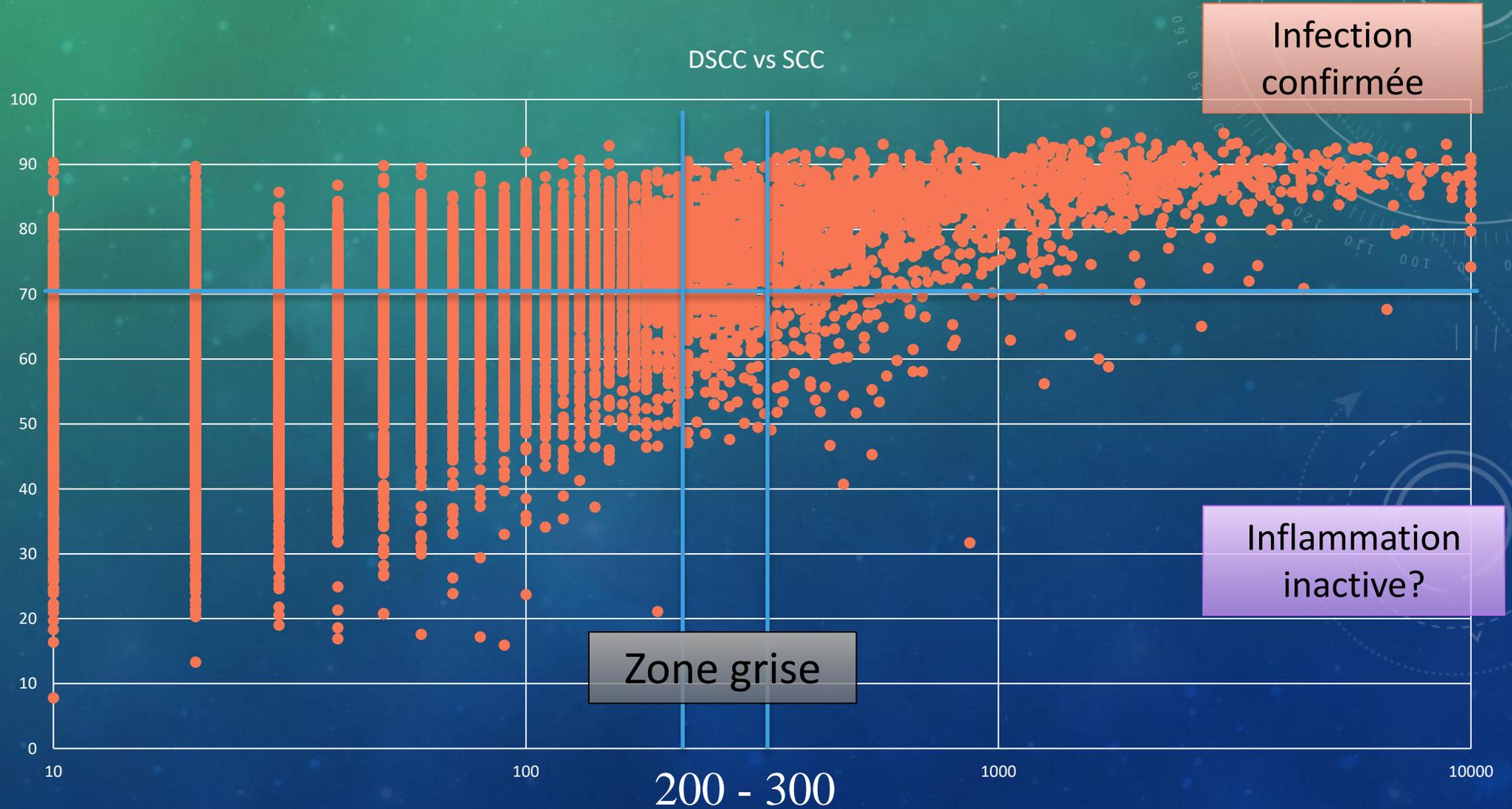
DSCC vs JEL



DSCC vs PROD



# BASE DE DONNÉE CELLULES/DSCC



# CROSS-SECTIONNAL ANALYSIS (MAMMITE >SEUIL)

DSCC	DSCC	DSCC
70%	60%	80%
Y=51%	Y=30%	Y=49%

Results	
<b>Sensitivity :</b>	<b>86.4%</b> (85.1%, 87.6%)
<b>Specificity :</b>	<b>64.6%</b> (63.6%, 65.6%)
Positive Predictive Value :	45.2% (43.9%, 46.5%)
Negative Predictive Value :	93.3% (92.7%, 94.0%)
True Prevalence :	25.3% (24.5%, 26.1%)
Apparent Prevalence :	48.3% (47.4%, 49.2%)
Youden's J :	51.0% (49.3%, 52.6%)
Fiability :	70.1% (69.3%, 70.9%)

Results	
<b>Sensitivity :</b>	<b>96.8%</b> (96.1%, 97.4%)
<b>Specificity :</b>	<b>33.6%</b> (32.5%, 34.6%)
Positive Predictive Value :	33.0% (32.0%, 34.0%)
Negative Predictive Value :	96.8% (96.2%, 97.5%)
True Prevalence :	25.3% (24.5%, 26.1%)
Apparent Prevalence :	74.1% (73.3%, 74.9%)
Youden's J :	30.3% (29.1%, 31.5%)
Fiability :	49.5% (48.6%, 50.5%)

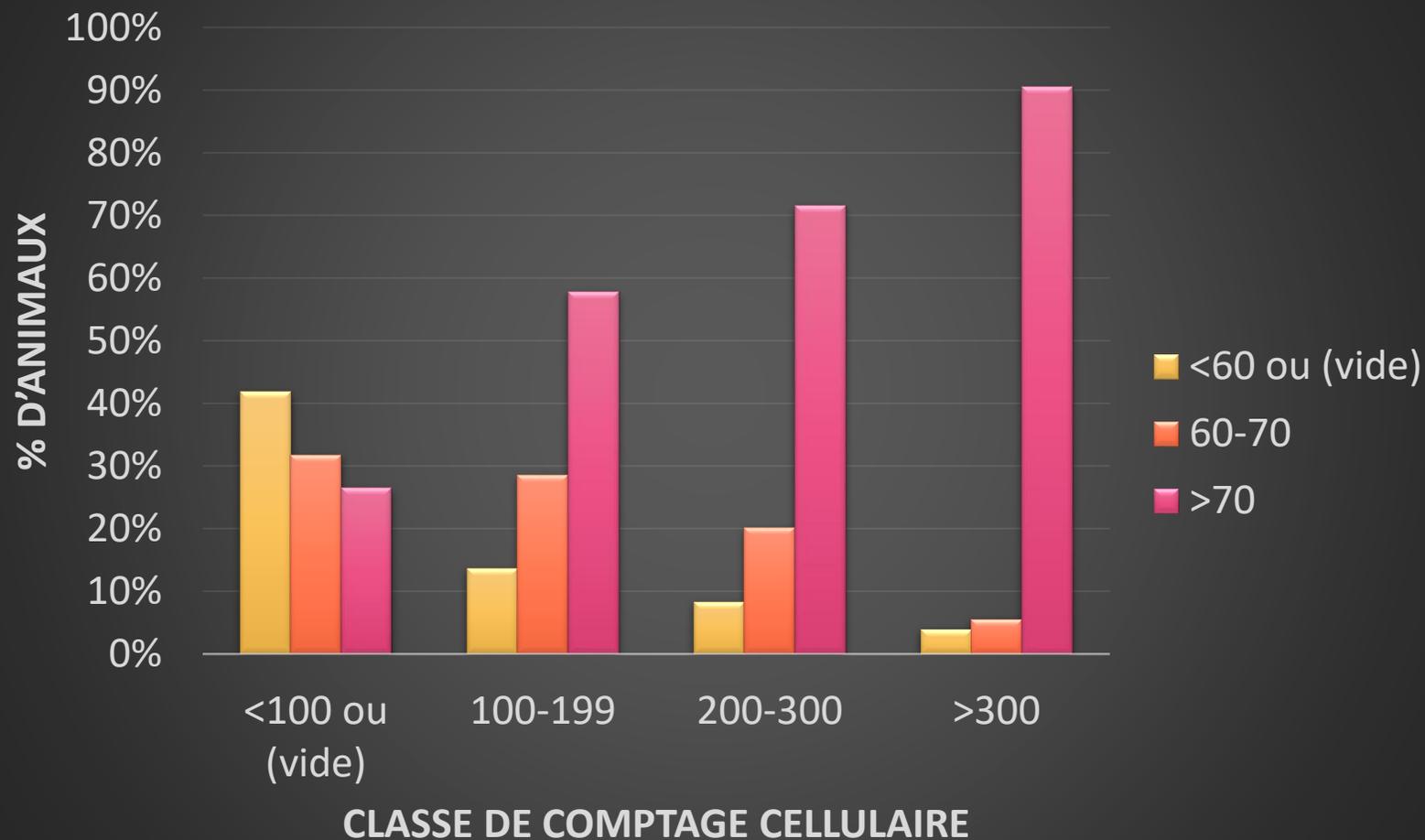
  

Results	
<b>Sensitivity :</b>	<b>56.5%</b> (54.6%, 58.3%)
<b>Specificity :</b>	<b>92.5%</b> (92.0%, 93.1%)
Positive Predictive Value :	71.9% (70.1%, 73.8%)
Negative Predictive Value :	86.3% (85.6%, 87.0%)
True Prevalence :	25.3% (24.5%, 26.1%)
Apparent Prevalence :	19.9% (19.1%, 20.6%)
Youden's J :	49.0% (47.1%, 50.9%)
Fiability :	83.4% (82.7%, 84.1%)

# COMPRENDRE CE MARQUEUR

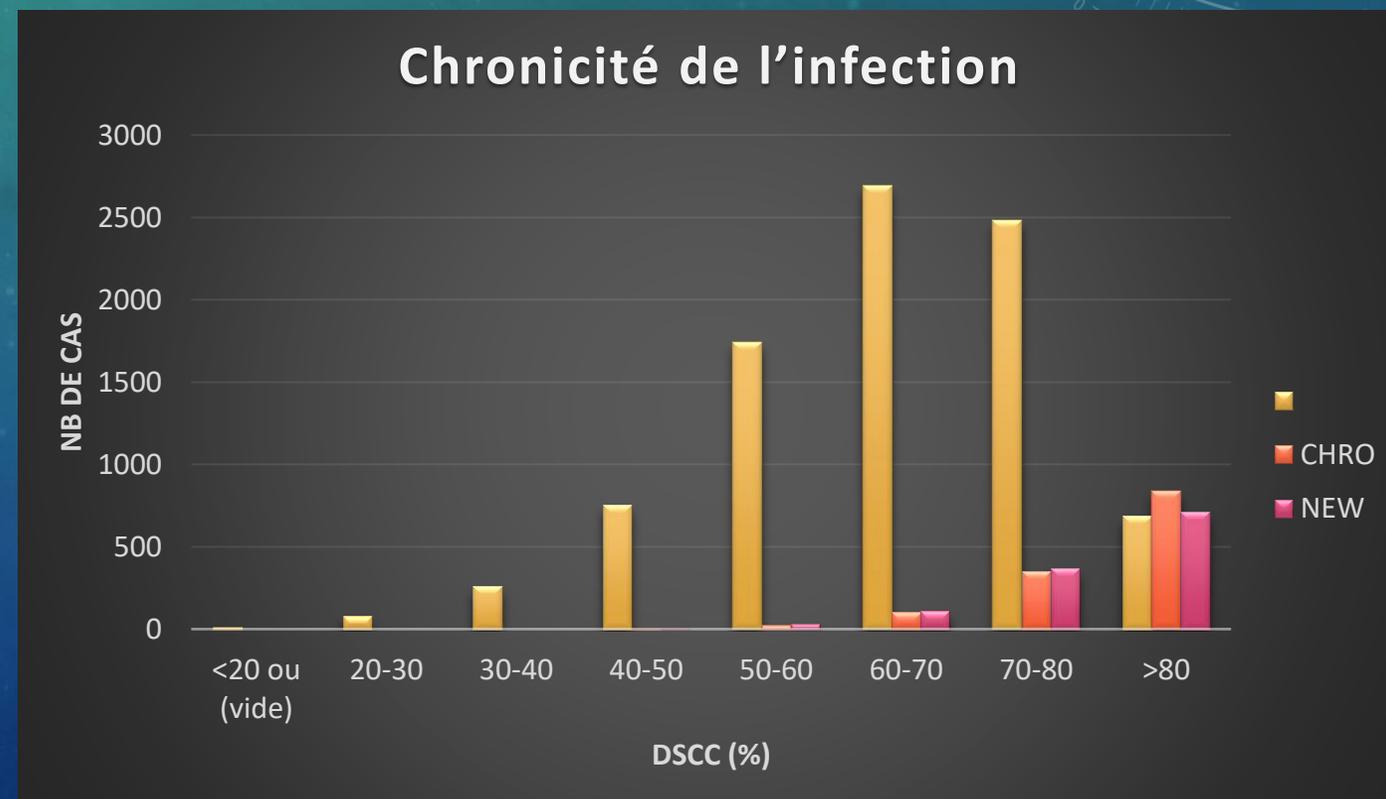
Déjà à bas comptage cellulaires, certaines vaches s'infectent et **ne sont pas détectées !**

## Comparaison SCC/DSCC



# AUTRES TESTS

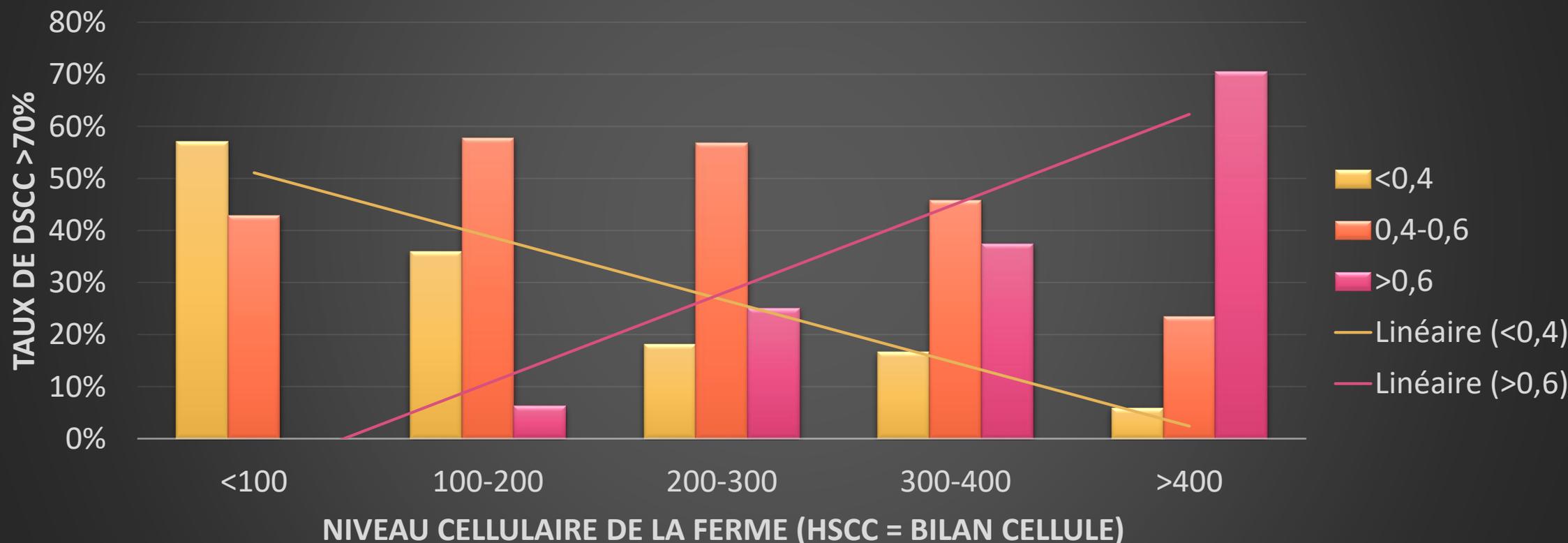
- Dépistage mammites cliniques :
  - Peu clair, mais base de données restreinte (**Pas de mammite <60%**)
- Ancienneté de l'infection :
  - Pas de différence claire



# INDICATEUR TROUPEAU?

Ferme >60% des vaches au dessus de DSCC 70%  
 = très instable niveau santé mammaire  
 Conseil : <40% de DSCC 70%

**Niveau de santé mammaire et DSCC >70%**  
**Echelle troupeau**



# SYNTHÈSE

Individuelle



Troupeau



# QUESTIONS

- Que signifie une vache très haute en cellule avec **DSCC très bas**?
- Existe-t-il des pathogènes qui font varier ce paramètre (**Staphylocoques** versus **Streptocoques**)?
- Quel **traitement** appliquer?
- Quels facteurs **protecteurs/préventifs** dans les bonnes fermes?



# TAKE HOME



- Premier outil à haut débit du genre, pour le comptage des cellules du lait !
- DSCC% = **PMN** + Lymphocytes
- Information plus précise sur le **risque de mammite à l'échelle individuelle**
  - Identification de vaches à prélever **dans la zone grise** ! =>70%
- Risque mammite à **l'échelle du troupeau**
  - Bonne prévention = **<40%** DSCC >70%
- **Sans contrôle laitier, peu de maîtrise !**



MERCI

