

Validation d'une méthode de dénombrement de la concentration en cellules somatiques du lait de vache au moyen du Coulter Counter® modèle Z2

KEBBAL S.^{1,2}, GHARBI I.¹, GUEMRA S.¹, HANZEN CH.³, GUETARNI D.¹

1. Département vétérinaire, Faculté des Sciences agrovétérinaires, Université Saad DAHLEB, BP 270 Ouled Yaïch, 09000 Blida, Algérie.

2. Institut des sciences vétérinaires, Centre universitaire d'El Tarf, Algérie.

3. Département clinique des Animaux de production, Service de Obstétrique et pathologies de la Reproduction des Équidés, Ruminants et Porcs, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, Bâtiment B42, 4000 Liège, Belgique.

Correspondance : Kebbal Seddik

Email : kebbal_seddik@yahoo.fr

RÉSUMÉ : Depuis longtemps utilisé pour le suivi sanitaire et la gestion technique des troupeaux laitiers, le résultat du comptage cellulaire de tank et donc indirectement du comptage cellulaire individuel est devenu un critère officiel pour le paiement du lait et le contrôle laitier. L'étude est consacrée à l'évaluation d'un compteur à particules : le Coulter Counter® modèle Z2. Après calibrage primaire et étalonnage de l'appareil, une évaluation de ses performances a été réalisée par la détermination de la justesse, de la fidélité et des critères d'appréciation des analyses sur des échantillons de laits de quartiers.

Pour l'appréciation de la justesse, les échantillons de lait ont été dénombrés au préalable par numération microscopique selon la méthode de Prescott et Breed (1910). Les résultats obtenus ont révélé une bonne corrélation (CC = 0,94) avec un coefficient de variation de 3,17 %. La fidélité, évaluée sur la base de la répétabilité (0,2 %) et de la reproductibilité (0,8 %) est de 1 %. Ces valeurs sont nettement inférieures aux normes préconisées par la Fédération Internationale de Laiterie (1995). La valeur diagnostique du matériel utilisé se trouve confirmée par les valeurs de 0,96 et 0,87 % obtenues respectivement pour la sensibilité et la spécificité. La confirmation de la qualité du matériel employé laisse entrevoir son utilisation possible à large échelle dans la Wilaya de Blida. À ce titre il constitue un outil irremplaçable de contrôle de la qualité et de valorisation du lait.

INTRODUCTION

Les mesures incitatives engagées dans le cadre du plan national du développement agricole (PNDA) se sont traduites par une très nette augmentation de la production nationale de lait. Celle-ci est, en effet, passée de 1 milliard de litres en 1995 à 2 milliards de litres en 2005 (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2007).

La numération des cellules somatiques du lait, méthode de diagnostic de l'état sanitaire de la mamelle, est actuellement universellement utilisée comme méthode d'évaluation de la qualité sanitaire du lait, reconnue par tous les partenaires de la filière lait et inscrite

dans les dispositifs réglementaires nationaux et internationaux (Schalm *et al.*, 1968 ; Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec, 2004 ; Institut de l'Élevage, 2008).

En Algérie, à ce jour, aucun laboratoire n'est doté d'une méthode fiable et reconnue pour l'évaluation de ce paramètre. Actuellement, le lait est payé en fonction (i) du taux de matières grasses, (ii) du point de congélation et occasionnellement en fonction (iii) des résidus d'antibiotiques. Le 1^{er} critère reflète la nature de l'alimentation, le 2^e permet de vérifier si le mouillage est pratiqué et le 3^e critère, appliqué dans certaines laiteries seulement, permet, le cas échéant, de ne pas

utiliser le lait pour sa transformation fromagère.

Les cellules somatiques présentes dans le lait sont issues du compartiment sanguin et impliquées dans les mécanismes de défense de la mamelle (Paape *et al.*, 1996). Bien qu'elles ne soient que des indicateurs d'un statut inflammatoire de la mamelle et qu'elles ne puissent en aucun cas permettre d'identifier d'une façon spécifique un agent pathogène (Riollet *et al.*, 1999), l'augmentation de leur concentration est étroitement corrélée à la présence de germes pathogènes pour la santé humaine. La valeur de la concentration en cellules somatiques du lait, issu d'un échantillon donné, est sujette à la variation. Cependant, l'existence

d'une norme internationale définissant les protocoles de mesures et les procédures de contrôles permet une bonne fiabilité des résultats. Le développement des comptages cellulaires n'a pu se faire qu'avec le développement simultané d'appareils et de méthodes de numérations rapides et économiques tels le SOMACOUNT™ 150 (Trossat *et al.*, 1998), l'ANADIS SCC500 (Trossat *et al.*, 1997), la méthode DEFT (Dasen *et al.*, 1989) ou encore le Coulter Counter® (Grappin et Jeunet, 1971). Ce dernier n'est pas le plus employé par les laboratoires de diagnostic mais c'est le seul existant à l'heure actuelle en Algérie.

La détermination systématique de la concentration en cellules somatiques du lait est importante car elle constitue un indicateur de santé mammaire en permettant la détection des mammites, surtout celles à caractère subclinique (Deluyker, 1991). Elle permet également d'évaluer les pertes économiques (Raubertas et Shook, 1982) et enfin constitue un outil de sélection et d'amélioration génétique (Rupp et Boichard, 1997).

Notre étude s'inscrit dans le contexte d'une enquête visant à identifier l'influence des pratiques d'élevage sur la santé mammaire et la production laitière. Elle sera conduite dans la Wilaya de Blida qui compte 626 élevages agréés comportant 6127 vaches laitières assurant une production laitière totale annuelle de 2 817 000 litres. Par cette enquête impliquant l'identification du statut sanitaire mammaire à travers les comptages somatiques, il nous a semblé indispensable de procéder, dans un premier temps, à la validation de notre outil de comptage cellulaire à savoir le « Coulter Counter® modèle Z2 », selon la norme ISO 5725 préconisée par la Fédération Internationale de Laiterie (FIL) (1995).

MATERIEL ET METHODES

Prélèvement et préparation des échantillons de lait

Nous avons prélevé de façon aléatoire durant le premier semestre de l'année 2007, 246 échantillons de laits de quartiers au sein d'une population de 91 vaches réparties dans 8 exploitations laitières de la Wilaya de Blida (Algérie). Ces prélèvements ont été effectués après lavage du pis par l'éle-

veur et élimination des premiers jets. Ils ont été acheminés dans une glacière (+ 4°C) au laboratoire de la « qualité sanitaire et hygiénique du lait » de l'Université de Blida. Tous les échantillons ont été analysés dans les 12 à 24 heures suivant leur prélèvement.

Un premier groupe constitué de 113 prélèvements a été analysé par microscopie et au moyen du Coulter Counter®. La numération au microscope (méthode de référence) des cellules somatiques a été réalisée selon la méthode de Prescott et Breed (1910) et conformément à la norme FIL (1995). La méthode consiste à colorer (bleu de méthylène) deux dilutions successives au 1/10^e et 1/100^e des prélèvements de lait. La concentration cellulaire (cellules/ml) a été déterminée au moyen d'un hématimètre (cellule de Malassez) examiné au grossissement 40. La numération au moyen du compteur Coulter (modèle Z2) a été réalisée après un premier calibrage de l'appareil au moyen d'une suspension étalon de particules en latex (diamètre de 10 µm) à la concentration de 2 x 10⁶ particules par millilitre. Nous avons utilisé un seuil minimal de 5 µm, diamètre le plus couramment utilisé (Grappin et Jeunet 1971 ; Fédération internationale de Laiterie, 1995). Les échantillons sont d'abord fixés par addition de 0,2 ml de formol (35 %) à 9,8 ml de lait et incubés à la température de 60°C pendant 30 minutes dans un bain marie. La clarification des échantillons de lait est réalisée par mélange de 0,1 ml de lait fixé à 9,9 ml de la solution électrolyte filtrée à travers deux membranes, l'une à 0,45 µm et l'autre à 0,22 µm. La préparation est ensuite incubée à 80 ± 1°C pendant 10 minutes dans un bain marie. Après refroidissement à température ambiante, le comptage est réalisé dans l'heure suivant la préparation des échantillons clarifiés. Le résultat est exprimé en milliers de cellules somatiques par millilitre de lait. L'analyse de ce premier groupe de prélèvements a permis de déterminer la justesse de la méthode, c'est-à-dire l'écart entre la mesure obtenue au moyen du Coulter Counter® et celle obtenue par microscopie, considérée dans le cas présent comme la valeur de référence.

Un second groupe constitué de 10 prélèvements a été analysé au moyen du Coulter Counter® par trois opérateurs différents en vue de déterminer la fidélité de la méthode, à savoir le degré

de variation du résultat obtenu par la méthode. Ce paramètre s'exprime par la répétabilité (variation entre les trois mesures successives, d'un même échantillon, réalisées par chaque opérateur utilisant le Coulter Counter®) et la reproductibilité (variation des résultats, entre les trois opérateurs utilisant le Coulter Counter®, pour chaque échantillon).

Un troisième groupe constitué de 123 prélèvements a été analysé par Coulter Counter® et par microscopie optique (méthode de référence) en vue de déterminer la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives, positive et négative, du Coulter Counter®.

Analyses statistiques

La justesse du Coulter Counter® a été déterminée par l'application du modèle linéaire utilisant la régression par les moindres carrés ordinaires (MCO) selon le modèle suivant : $Y = a + bx + e$.

Y étant le logarithme décimal du taux cellulaire obtenu à partir du Coulter,

x = la variable explicative, le logarithme décimal du taux cellulaire obtenu par microscopie,

a = la constante,

b = le coefficient de la pente de la droite de régression,

e = l'erreur résiduelle.

La fidélité de la méthode a été déterminée par le modèle d'analyse de variance, modèle qui a été résolu à l'aide du logiciel SAS (version 2008) en utilisant la procédure GLM (*General Linear Model*). Le modèle de régression est le suivant : $y_{ijk} = \mu + \beta + O_i + P_j + (OP)_{ij} + E_{ijk}$.

y_{ijk} = le logarithme décimal du taux cellulaire, O_i = opérateur, P_j = pièce (nombre d'échantillon de lait), $(OP)_{ij}$ = interaction opérateur et pièce, E_{ijk} = effet répétition.

La qualité de la méthode a été déterminée au moyen des paramètres classiquement utilisés (Feinberg, 1996), à savoir : la sensibilité [$Se = VP / (VP + FN)$], la spécificité [$Sp = VN / (VN + FP)$], la valeur prédictive positive [$VPP = VP / (VP + FP)$] et la valeur prédictive négative [$VPN = VN / (VN + FN)$] rapportées dans le tableau I.

Sur la base des résultats rapportés par Schalm et Noorlander (1957), nous avons arbitrairement considéré comme négatif, le lait dont le dénombrement

Tableau I : Critères d'appréciation des tests

Critères	Définitions	Formule
Se	Laits jugés positifs par la MR et la MT/ Totalité des laits jugés par la MR	$VP/(VP + FN)$
Sp	Laits jugés négatifs par la MR et la MT/ Totalité des laits jugés négatifs par la MR	$VN/(VN + FP)$
VPP	Laits jugés positifs par la MR et la MT/ Totalité des laits positifs par la MT	$VP/(VP + FP)$
VPN	Laits jugés négatifs par la MR et la MT/ Totalité des laits jugés négatifs par la MT	$VN/(VN + FN)$

Lait jugé positif : taux cellulaire $> 500 \times 10^3$ cellules / millilitre ; lait jugé négatif : taux cellulaire $< 500 \times 10^3$ cellules / millilitre ; Se = sensibilité, Sp = spécificité, VPP = valeur prédictive positive, VPN = valeur prédictive négative, VP = vrai positif, FP = faux positif, VN = vrai négatif, FN = faux négatif, MR = méthode de référence, MT = méthode testée.

cellulaire est inférieur à 500×10^3 cellules/ml et comme positif, le lait dont le dénombrement cellulaire est supérieur à 500×10^3 cellules/ml.

RESULTATS

Les concentrations cellulaires du premier groupe de 113 échantillons de lait déterminées au microscope et au moyen du Coulter Counter® sont respectivement comprises entre 20×10^3 et 88.000×10^3 cellules/ml et entre $71,7 \times 10^3$ et $80\,545 \times 10^3$ de cellules/ml.

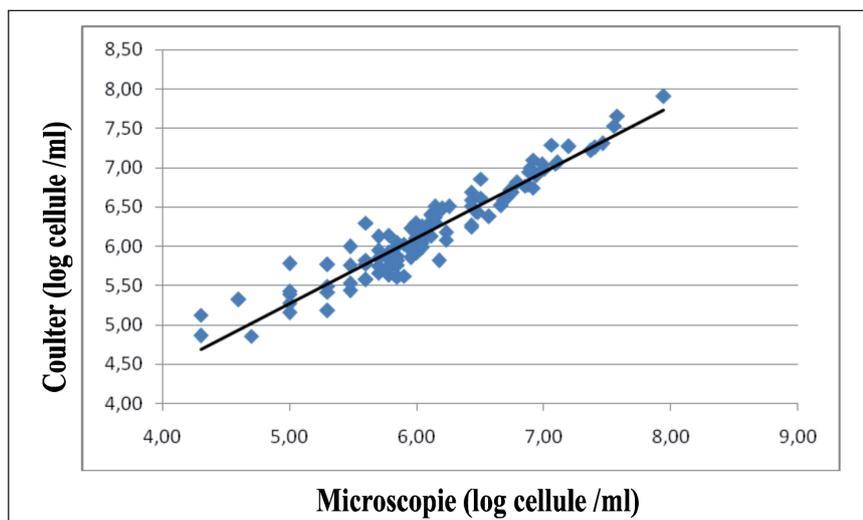
La justesse de la méthode exprimée par le coefficient de corrélation entre les deux méthodes est de 0,94.

L'intervalle de confiance (à 95 %) est compris entre 0,91 et 0,98. Le coefficient de variation, entre les deux méthodes, est de 3,2 %, la variance erreur s'élevant à 0,04. Une droite de régression a été obtenue après transformation des résultats en logarithme décimal.

Le traitement statistique, au moyen du modèle proposé, montre que le coefficient de la pente de la droite de régression est égal à 0,8, avec un p inférieur à 0,001 (figure 1)

Les taux cellulaires moyens des 10 échantillons prélevés en vue de l'évaluation de la fidélité de la méthode étaient compris entre $110,6 \times 10^3$ et 7975×10^3 cellules/ml. Les résultats

Figure 1 : Relation entre les déterminations du nombre de cellules de 113 laits crus de quartiers fait au microscope (X) et au Coulter Counter® (Y)



Microscopie (log cellule/ml) = logarithme décimal des dénombrements cellulaire obtenus par microscopie ; Coulter (log cellule/ml) = logarithme décimal des dénombrements cellulaire obtenus par Coulter Counter®.

de chaque opérateur à l'encontre de chaque échantillon sont rapportés dans le tableau II.

Les composants de variance entre échantillons de lait et entre opérateurs résultant de l'analyse de variance multivariée étaient respectivement de 1,62 et 0,003. Le composant de variance « interaction entre échantillons de lait et opérateurs » est égal à 0,01, le composant variance erreur étant de 0,003. La somme des composants de variance est égale à 1,6. Compte tenu de ces données, la répétabilité, définie comme le rapport entre la variance de l'erreur et la somme des composantes de variance, est égale 0,2 %. La reproductibilité, définie par le rapport entre la somme des composants de variance entre opérateurs et le coefficient d'interactions entre échantillons de lait et la somme des composants de variance, est égale à 0,8 %.

La méthode s'avère être non seulement répétable et reproductible mais également fidèle puisque la somme des coefficients de répétabilité (0,2 %) et de reproductibilité (0,8 %) est nettement inférieure à la valeur de 10 % recommandée par la FIL (1995).

Les résultats des numérations obtenues par la méthode microscopique et au moyen du Coulter Counter® pour les 123 échantillons de laits de quartiers sont rapportés dans le tableau III.

L'analyse des résultats confirme la très bonne sensibilité de la méthode (0,96). Le Coulter Counter® permet de détecter 96 % des laits dont la concentration est supérieure à 500×10^3 cellules/ml. La méthode est également spécifique (0,87) puisqu'elle permet d'identifier correctement les échantillons dont la concentration est inférieure à 500×10^3 cellules/ml. Les valeurs prédictives positives (0,95) et négatives (0,90) apparaissent également satisfaisantes car elles laissent entendre que 95 et 90 % des numérations correspondent respectivement à des échantillons dont les concentrations sont respectivement supérieures et inférieures à 500×10^3 cellules/ml.

DISCUSSION

La détermination des concentrations en cellules somatiques du lait réalisée au moyen du Coulter Counter® modèle Z2 est révélée être extrêmement corrélée ($r = 0,94$) avec celles obtenues par l'examen microscopique. Ce coefficient est inférieur à ceux rap-

Tableau II : Répartition des résultats par opérateur et passage au Coulter

Laits	Opérateur 1			Opérateur 2			Opérateur 3		
	1 ^{re} lecture (cellules/ml)	2 ^e lecture (cellules/ml)	3 ^e lecture (cellules/ml)	1 ^{re} lecture (cellules/ml)	2 ^e lecture (cellules/ml)	3 ^e lecture (cellules/ml)	1 ^{re} lecture (cellules/ml)	2 ^e lecture (cellules/ml)	3 ^e lecture (cellules/ml)
1	472600	475400	463100	347800	332200	341600	452200	498600	463000
2	6797000	6829000	6102000	7065000	7714000	7770000	7975000	7872000	6988000
3	3908000	3862000	3845000	3172000	3100000	3954000	3991000	3949000	3160200
4	1593000	1593000	1598000	1520000	1523000	1528500	1754000	1738000	1714200
5	110600	118600	117400	165000	167000	162060	161000	168400	161000
6	1424000	1433000	1476400	1378000	1357000	1367800	1661000	1695000	1605000
7	213400	196800	201200	178400	176000	159400	264600	217400	257400
8	944800	905400	930400	870600	705600	713000	801400	788800	804600
9	1894000	1884000	1874000	1850000	1861000	1852000	1893000	1911000	1993600
10	3210000	3268000	3218600	3230000	3250000	3271400	3236000	3178000	3962000

cellules/ml : cellules par millilitre.

Tableau III : Confrontation des résultats de la numération microscopique et du dénombrement au Coulter.

		Dénombrement au Coulter (MT) (n = 123)	
		Laits négatifs (n = 32)	Laits positifs (n = 91)
Numération au microscope (MR) (n = 123)	Laits négatifs (n = 33)	VN = 29	FP = 4
	Laits positifs (n = 90)	FN = 3	VP = 87

VP = vrai positif, FP = faux positif, VN = vrai négatif, FN = faux négatif, MR = méthode de référence, MT = méthode testée, n = effectif de l'étude.

portés par d'autres auteurs (Mitchell, 1967 ; Pearson *et al.*, 1970 ; Grappin et Jeunet, 1971) à 0,97. Cependant la justesse obtenue, exprimée dans notre cas par le coefficient de variation (3,2 %), est inférieure au seuil du coefficient de variation de 5 %, seuil préconisé et recommandé par la norme FIL (1995).

De même, l'analyse multivariée de nos résultats démontre que la fidélité de la méthode (1 %) est inférieure à la valeur de 10 % considérée comme normale par la FIL (1995). D'autres auteurs (Dijkman, 1969 ; Read *et al.*, 1969) sur la base d'analyses univariées ont rapporté des coefficients de variation de la reproductibilité com-

pris entre 2,8 % et 7,8 %. Dans l'un et l'autre cas, la reproductibilité s'est avérée inférieure aux normes préconisées.

Nos résultats donnent à penser à la possible utilisation du Coulter Counter® modèle Z2 dans nos conditions d'élevage et de laboratoire. Les performances de cet équipement sont comparables, voire supérieures, à celles d'autres systèmes plus anciens de détermination automatique du taux cellulaire du lait. Ainsi, des coefficients de variation de fiabilité et de répétabilité, respectivement de 2,3 et 5,3 %, ont été rapportés pour le Coulter Counter® (modèle A) (Grappin et Jeunet, 1973). De même, ces coef-

ficients de variation de fiabilité et de répétabilité sont respectivement de 3,6 et 9,4 % pour la méthode DEFT (*direct epifluorescent filter technique*) (Dasen *et al.* 1989), de 1,8 et 9 % pour la méthode Anadis SCC500 (Trossat *et al.* 1997) et de 4,4 et 1,4 % pour la méthode SOMACOUNT 150 (Trossat *et al.*, 1998).

La qualité de la méthode a été très bien déterminée, car la valeur diagnostique du matériel utilisé se trouve confirmée par les valeurs de 0,96 et 0,87 % obtenues respectivement pour la sensibilité et la spécificité.

CONCLUSION

La présente étude confirme l'utilisation possible du matériel dont dispose notre laboratoire et de la méthode de détermination automatique du taux cellulaire. Néanmoins, ces résultats devront faire l'objet d'investigations complémentaires visant à rendre possible l'application sur une plus grande échelle sur le terrain. La faisabilité de la mise en place d'un système de contrôle de la qualité de la production laitière devra être envisagée en partenariat avec les divers acteurs de la filière laitière, à savoir le Ministère de l'Agriculture, les industries de collecte et de transformation du lait, les vétérini-

naires et les éleveurs. Il est en effet indispensable de pouvoir disposer d'un outil de diagnostic et de contrôle de la qualité de la production laitière. Un tel système rendrait non seulement possible une meilleure identification des facteurs de risque de la mammite mais contribuerait également à l'amélioration de la rentabilité économique des élevages laitiers.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le docteur J.-M. Beduin de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège, Maghni Euthmane, Amara Meriem, Tarzali Dalila de l'Université de Blida et le personnel des services agricoles de Blida, pour leur importante collaboration technique.

SUMMARY

Validation of an enumeration method of the somatic cells in cow's milk (Coulter Counter model Z2)

Since a long time used for the connected sanitary and technical management of dairy cattle, the result of cells count of bulk is than indirectly of cells individual is being an official criteria of milk payment and milk control.

This study is consecrated to the evaluation of particular count (Z2 Coulter Counter®), after first calibration and etalonnement, an evaluation of its performances has been realised by the determination of the accuracy, the fidelity and the criteria of the appreciation analysis on milk samples of quarter's. For the accuracy appreciation, the milk samples have been enumerating imperiously by microscopic numeration according to Prescott and Breed (1910) method. The results obtained revealed a good correlation (CC = 0.94), with a coefficient of variation of 3.17 %. The

fidelity, evaluated on the basis of the repeatability (0.2 %) and reproducibility (0.8 %) is of 1 %. This values are definitely lower than the standards recommended by the International Dairy Federation (1995). The diagnostic value of the material used is confirmed by the values of 0.96 and 0.87 % obtained respectively for the sensibility and specificity. The confirmation of the quality of the material used drop a hint that it is possible used at a large ladder in the Wilaya of Blida. In this title it constitutes an irreplaceable tool in the control of the quality and the valorisation of milk.

BIBLIOGRAPHIE

- CENTRE DE RÉFÉRENCE EN AGRICULTURE ET AGROALIMENTAIRE DU QUÉBEC Lait de qualité (2004), [en ligne] (01/12/04) Adresse URL : http://www.agrireseau.qc.ca/bovinslaitiers/documents/Grenon_Claude.pdf consulté le 01/03/08.
- DASEN A., PITON C., BEUVIER E., GRAPPIN R. Numération des cellules somatiques du lait cru par la technique DEFT associée à un comptage visuel ou analyse d'image. *Lait*, 1989, **69**, 461-477.
- DELUYKER H.A. Milk yield fluctuations associated with mastitis. In : Burvenich, C.; Vandeputte-Van Messom, G.; Hill, A. W. (Eds), *New insights into the pathogenesis of mastitis*. Rijksuniversiteit Gent : Gent, 1991, 207-216.
- DIJKMAN A.J., SCHIPPER C.J., BOOY C.J., POSTHUMUS G. The estimation of the number of cells in farm milk. *Ned. Melk Zuiveltijdschr.*, 1969, **23**, 168-181.
- FEDERATION INTERNATIONALE LAITIÈRE Norme FIL/IDF 148A : numération des cellules somatique du lait. Fédération internationale laitière : Bruxelles, 1995.
- FEINBERG M. La validation des méthodes d'analyse : une approche chimométrique de l'assurance qualité au laboratoire. Masson : Paris, 1996, 397 p.
- GRAPPIN R., JEUNET R. Essais de l'appareil « Compteur Coulter » utilisé pour la détermination du nombre de cellules totales des laits de troupeaux. *Lait*, 1971, **51**, 273-293.
- GRAPPIN R., JEUNET R. Essai d'une chaîne automatique de numération des cellules du lait utilisant le « Compteur Coulter ». *Rev. Lait. Fr.*, 1973, **313**, 737-747.
- INSTITUT DE L'ELEVAGE Maladie des bovins. France Agricole : Paris, 2008, 800 p.
- LERAY O., TROSSAT P.H. Calibration and quality control of automatic somatic cell counters using recombined milk samples. In : *Performance recording of animals: state of the art 1996*. Proceedings of the 30th biennial session of ICAR, Veldhoven, The Netherlands, June 23-28, 1996, 197-200.
- MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DU DÉVELOPPEMENT RURAL Direction des Services statistiques 2007.
- MITCHELL W.R., NEWBOULD F.H.S., PLATONOW L. Electronic and microscopy counts on bulk-milk samples. *Vet. Rec.*, 1967, **81**, 298-299.
- PAAPE M.J., LILLIUS E.M., WIITANEN P.A., KONTIO M.P. Intramammary defense against infections induced by *Escherichia coli* in cows. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, **57**, 477-482.
- PEARSON J.K.L., WRIGHT C.L. GREER D.O. A study of methods for estimating the cell content of bulk-milk. *J. Dairy Res.*, 1970, **37**, 467-80.

- PRESCOTT S.C., BREED R.S. The determination of the number of body cells in milk by a direct method. *J. Infect. Dis.*, 1910, **7**, 632-640.
- RAUBERTAS R.F., SHOOK G.E. Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. *J. Dairy Sci.*, 1982, **65**, 419-425.
- READ R.B.Jr, REYERS A.L., BRADSHAW J. G., PEELER J.T. Evaluation of seven procedures for detection of abnormal milk due to Mastitis. *J. Dairy Sci.*, 1969, **52**, 1359-1367.
- RIOLLET C., RAINARD P., POUTREL B. Cinétique de recrutement cellulaire et de multiplication bactérienne après infection, cellules somatiques du lait. In : Groupements Techniques Vétérinaires, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA, France), Cellules somatiques du lait : journées nationales GTV-INRA : Nantes, 26-27-29 mai 1999, 184.
- RUPP R., BOICHARD D. Evaluation génétique des bovins laitiers sur les comptages de cellules somatiques pour l'amélioration de la résistance aux mammites. In : proceedings des 4^e rencontres autour des recherches sur les ruminants, Paris, France, 4 et 5 décembre 1997, 1997, 211-214.
- SCHALM O.W., NOORLANDER S. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1957, **130**, 199-204.
- TROSSAT PH., LERAY O. Evaluation : Anadis SCC 500. La lettre de CECALAIT, octobre 1997, 24.
- TROSSAT PH., LERAY O. Evaluation : Somacount 150. La lettre de CECALAIT, avril 1998, 25.