



HAL
open science

Dosage immunonéphélométrique des immunoglobulines G du lait de vache. II. Application à la détection de la présence de colostrum dans les laits de mélange

F. Joisel, B. Lannuzel, J. P. Lebreton, S. Boutleux, F. Sauger

► To cite this version:

F. Joisel, B. Lannuzel, J. P. Lebreton, S. Boutleux, F. Sauger. Dosage immunonéphélométrique des immunoglobulines G du lait de vache. II. Application à la détection de la présence de colostrum dans les laits de mélange. *Le Lait*, 1981, 61 (609_610), pp.568-589. hal-00928910

HAL Id: hal-00928910

<https://hal.science/hal-00928910v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Dosage immunonéphélométrique des immunoglobulines G du lait de vache

II. Application à la détection de la présence de colostrum dans les laits de mélange

par

F. JOISEL (1, 2), B. LANNUZEL (3), J. P. LEBRETON (2, 4),
S. BOUTLEUX (2) et F. SAUGER (5)

INTRODUCTION

La mise au point du dosage immunonéphélométrique des IgG dans le lait de vache [5] procure un outil spécifique, précis, fiable et commode permettant d'effectuer en série la mesure de la concentration de ces protéines dans un grand nombre d'échantillons de lait provenant de traites individuelles, de troupeaux ou de grands mélanges.

A l'heure actuelle, la seule méthode officielle de détection de la présence de colostrum dans le lait est l'épreuve de coagulation à l'ébullition : le colostrum pur ne coagule plus à la chaleur à partir du 3^e ou du 4^e j de lactation, selon les individus.

Cette communication fournit les bases d'une détection statistique de la présence de colostrum dans un lait de troupeau quelconque, par comparaison de son taux d'IgG au taux moyen pour ces protéines, calculé à partir de mélanges simulés à volume donné.

(1) U.E.R. Médecine-Pharmacie, Université de Rouen-Haute-Normandie, rue T.-Becket - 76130 Mont-Saint-Aignan.

(2) Centre Régional de Transfusion Sanguine, 609, chemin de la Bretèque - 76230 Bois-Guillaume.

(3) Laboratoire de Micro-infographique, Faculté des Lettres, Université de Haute-Normandie, rue T.-Becket - 76130 Mont-Saint-Aignan.

(4) I.N.S.E.R.M., U-78, 543, chemin de la Bretèque - 76230 Bois-Guillaume.

(5) Laboratoire de Biochimie, Hôtel-Dieu, 51, rue de Lecat - 76000 Rouen.

MATERIEL ET METHODES

I. Constitution des populations de données

Trois populations d'échantillons de lait ou de colostrum ont été sélectionnées et pour chacun des échantillons des renseignements qualitatifs ou quantitatifs ont été colligés.

I.1. POPULATIONS D'ÉCHANTILLONS - PARAMÈTRES QUALITATIFS ET QUANTITATIFS RECUEILLIS

I.1.1. *Population A*

Elle est constituée de 670 échantillons de lait individuel prélevés lors du contrôle laitier, pendant le mois de janvier, dans des exploitations des départements de l'Eure et de la Seine-Maritime. Chaque prélèvement est accompagné des renseignements suivants : délai depuis le vêlage, race, numéro de lactation et volume de la traite à partir de laquelle la prise d'échantillons est effectuée. Chaque prélèvement a subi un test au teepol (CMT), les germes microbiens et les cellules somatiques y ont été dénombrés et les constituants suivants ont fait l'objet d'un dosage : matière protéique totale (MPT), matière grasse (MG), lactose (L), chlorure de sodium (NaCl) et immunoglobulines G (IgG). La quantité de matière grasse produite (QMG) a été calculée comme le produit du volume de la traite par la concentration en matière grasse.

I.1.2. *Population B*

Elle est constituée de trente échantillons de lait individuel recueillis en Seine-Maritime, au mois de juin, dans une exploitation pratiquant les vêlages d'automne groupés. Les prélèvements ont été effectués au-delà du 240^e j de lactation et les IgG ont été dosées.

I.1.3. *Population C*

Elle est constituée de 11 échantillons de colostrum correspondant aux premières traites d'une vache ayant vêlé dans le courant du mois de décembre 1979. Pour ces échantillons, les teneurs en matière protéique totale (MPT) et en immunoglobulines G (IgG) ont été mesurées.

I.1.4. *Autres populations*

D'autres populations : D, E et F sont obtenues à partir des populations de base A et B (voir partie « Résultats »).

I.2. MÉTHODES DE DOSAGES

I.2.1. Le test au teepol a été réalisé en utilisant le réactif leucocyttest[®] (Roger Bellon). La lecture des résultats notés de 0 à 4+ a été effectuée selon les instructions jointes au produit et par le même opérateur pour les 670 échantillons de la population A.

I.2.2. Le dénombrement des germes microbiens a été réalisé par dilution, ensemencement sur gélose nutritive ordinaire, incubation à 37° C pendant 48 h et lecture automatique du nombre de colonies.

I.2.3. Le dosage de la matière protéique totale dans les échantillons appartenant aux populations A et C a été effectué par spectrophotométrie infra-rouge (I.R.M.A.), étalonnée sur la technique photométrique officielle au Noir-amido.

I.2.4. Le dosage de la matière grasse a été réalisé par une méthode spectrophotométrique à infra-rouge, étalonnée grâce à la technique acidobutyrométrique officielle de Gerber.

I.2.5. Le chlorure de sodium a été dosé par titrimétrie.

I.2.6. Le lactose a été dosé par photométrie.

I.2.7. Les taux d'immunoglobulines G ont été mesurés par immunonéphélométrie laser [5] au moyen d'un immunsérum anti-IgG de spécificité anti-classe (anti-H) et anti-sous-classes (anti-IgG1 et anti-IgG2).

II. Analyse statistique

II.1. MATÉRIEL UTILISÉ

Le matériel utilisé pour l'analyse statistique est un micro-ordinateur HP 9825, connecté à une table traçante HP 9872 (Hewlett Packard).

II.2. TEST DE DÉTECTION DE LA PRÉSENCE DE COLOSTRUM DANS LES LAITS DE TROUPEAU

La concentration des IgG est considérablement augmentée dans le colostrum (jusqu'à 100 g/l en première traite [6]). La présence de colostrum dans un lait de troupeau est responsable d'une augmentation du taux des immunoglobulines G. Cependant, le lait normal contient des IgG. Il est donc nécessaire de comparer statistiquement le taux d'IgG mesuré dans un mélange de laits suspect, aux valeurs prises par ce paramètre dans les laits non colostraux. L'addition d'une même quantité de colostrum à des volumes de lait différents, tout en constituant la même fraude, n'a pas la même influence que le taux des IgG du mélange en raison de la dilution. C'est pourquoi il est nécessaire, dans l'établissement d'un seuil tolérable pour la concentration des IgG de faire intervenir ce facteur dilution. L'établissement de ce seuil (ou norme) et son étude critique sont réalisés en cinq étapes.

II.2.1. *Analyse descriptive de la population des valeurs prises par le taux des IgG dans la population des laits individuels non colostraux (populations A et B)*

La répartition de probabilité pour les valeurs de la concentration en IgG est estimée par les histogrammes de fréquence de la population A et de certaines sous-populations de A et de B (laits de fin de lactation, laits de mammite).

L'homogénéité, la représentativité et les éventuels biais d'échantillonnage dans la population de laits non colostraux sont étudiés grâce aux autres paramètres colligés pour les différents individus.

II.2.2. *Simulation de groupes de laits de troupeaux d'un volume donné*

Chaque individu de la population A est caractérisé, entre autres paramètres, par le volume de la traite à partir de laquelle a été effectué le prélèvement et par le taux des IgG dans cette traite. La machine, par un tirage au hasard, et sans remise pour chaque troupeau, choisit des individus dans la population A et additionne les volumes de lait correspondants jusqu'à ce que le volume fixé au départ soit atteint. Le taux des IgG de ce lait de troupeau fictif ou simulé est alors calculé. De cette façon, 30 laits de troupeaux sont ainsi constitués et 30 taux d'IgG sont obtenus pour une tranche de volume, à partir desquels sont calculés une moyenne et un écart-type. Cette opération est réalisée pour chacune des tranches de volume allant de 25 à 2 000 l (voir tab. 5).

II.2.3. *Position du problème et risques d'erreur attachés à la décision*

Le problème consiste à détecter la présence de colostrum dans un lait de troupeau quelconque. La concentration en IgG du colostrum est plus élevée que celle du lait. L'étude statistique consiste à définir, en fonction du volume, le taux d'IgG maximum qui n'est dépassé, en cas de lait non colostré, qu'avec une probabilité donnée. Dès lors, deux risques d'erreur sont à considérer : celui de répondre que le lait testé contient du colostrum, alors qu'il n'en contient pas (risque de première espèce) et celui de répondre que le lait ne contient pas de colostrum alors qu'il en contient (risque de deuxième espèce). Dans ce type de décision, il est d'usage de privilégier le risque de première espèce, tel qu'il vient d'être défini, en fixant la valeur maximum.

La limite supérieure de l'intervalle de confiance autour de la moyenne est déterminée au risque d'erreur choisi. Une courbe est tracée qui joint tous les points ainsi obtenus pour chaque tranche de volume, puis cette courbe est « lissée » en lui ajustant la meilleure courbe théorique (courbe de lissage) du modèle :

$$y = \frac{a}{\sqrt{x}} + b \quad \left. \begin{array}{l} \text{où } y \text{ est le seuil tolérable pour la concentration en IgG} \\ \text{et } x \text{ est le volume du lait de mélange.} \end{array} \right\}$$

(on sait, en effet, que l'écart-type autour de la moyenne des taux d'IgG des troupeaux simulés varie inversement avec la racine carrée du nombre d'individus constituant le troupeau, c'est-à-dire en première approximation avec la racine carrée du volume de lait du troupeau ainsi constitué). La courbe d'ajustement à un risque donné constitue la « norme » à ce risque.

II.2.4. *Analyse critique de la puissance du test*

Des mélanges de lait et de colostrum sont simulés en ajoutant à un lait de troupeau d'un volume donné et de concentration en IgG égale à la moyenne obtenue pour cette tranche de volume, un volume de colostrum choisi arbitrairement (9,3 l soit la moyenne des volumes des traites dans la population A) et ayant pour concentration en IgG celle d'un des échantillons de la population C. Les valeurs du taux des IgG ainsi obtenues sont comparées aux normes définies pour des risques d'erreur donnés.

II.2.5. *Critique de la sécurité et de la spécificité du test*

Le comportement, par rapport aux normes, de populations extrêmes dans les situations physiologiques (fin de lactation) et pathologiques (inflammation mammaire) pour lesquelles il est connu qu'une augmentation notable du taux des IgG peut intervenir, est analysé.

Certaines explications directes sur les procédés de calculs seront notées dans la partie « *Résultats* », afin de clarifier les étapes de raisonnement et d'éviter de nombreux reports.

RESULTATS

I. **Analyse descriptive des populations d'échantillons**

I.1. LA FIGURE 1 REPRÉSENTE LES HISTOGRAMMES DE FRÉQUENCE POUR LE TAUX DES IgG DES QUATRE POPULATIONS SUIVANTES :

- population A (670 individus) ;
- population D, formée de la population B à laquelle sont ajoutés tous les échantillons appartenant à A et prélevés à plus de 240 j de vêlage : laits de fin de lactation (au total 73 individus) ;
- population E : laits appartenant à la population A et dont la réponse au CMT est supérieure ou égale à 2+ : laits de mammite (125 individus) ;
- population F : laits appartenant à A, prélevés à moins de 240 j de lactation et ne présentant pas de signes inflammatoires : réponse au CMT \leq 1+ (522 individus).

Les valeurs des moyennes m des quatre populations satisfont l'inégalité :

$$m_F = 0,59 \text{ g/l} < m_A = 0,65 \text{ g/l} < m_E = 0,83 \text{ g/l} < m_D = 1,26 \text{ g/l}.$$

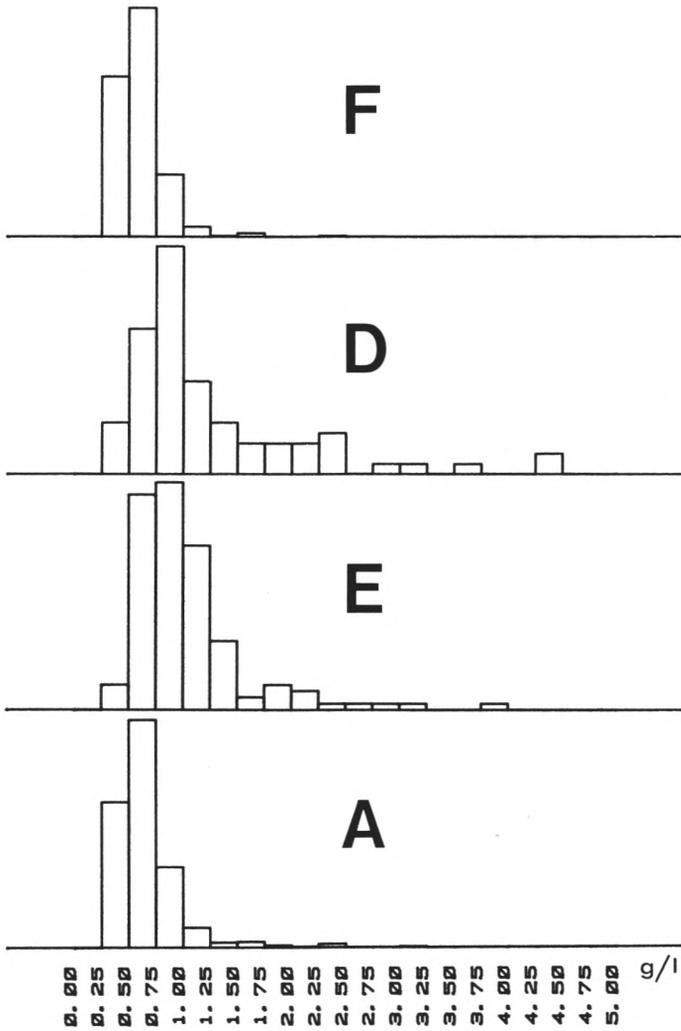


fig. 1

Histogramme de fréquence pour les taux des IgG dans quatre populations F, D, E et A (voir « Résultats ») en abscisse sont indiquées les valeurs limites des classes.

Cette relation est en concordance avec les conclusions d'autres auteurs [1, 9] indiquant que la concentration en IgG est augmentée dans les laits de fin de lactation et dans les laits mammitieux.

TABLEAU 1

Analyse descriptive des valeurs prises par les paramètres quantitatifs dans la population A (670 laits non colostraux). MPT : matières protéiques totales, MG : matière grasse, L : lactose, NaCl : chlorure de sodium, IgG : immunoglobulines G, QMG : quantité de matière grasse obtenue comme le produit du volume de la traite par la concentration en matière grasse.

Le coefficient d'aplatissement (Fischer) estime la dispersion des valeurs au troisième degré : il est égal à 3 pour une répartition de Laplace-Gauss. Le coefficient d'asymétrie

(Pearson) estime la dispersion au quatrième degré : sa valeur est nulle pour une répartition symétrique.

Ce coefficient est très influencé par les valeurs éloignées de la moyenne en raison du degré 4 intervenant dans son calcul ; il est positif pour une distribution étirée vers la droite et négatif pour une distribution étirée vers la gauche.

Il est possible de considérer ici que la répartition des paramètres suivants : volume de la traite, MPT, MG, NaCl et QMG sont proches de la loi normale.

Nature du paramètre	Volume de la traite	MPT	MG	Cellules somatiques	Germes micro-biens	L	NaCl	IgG	Délai entre vêlage et prélèvement	QMG
Unité	l	g/l	g/l	cellule/ml	cellule/ml	g/l	g/l	g/l	jour	g pour une traite
Effectif total	675	669	648	646	638	521	669	670	676	648
Moyenne	9,302	34,25	40,65	3,6.10 ⁵	6,1.10 ⁴	53,07	1,49	0,650	100	374,2
Ecart-type	3,128	4,22	7,33	4,8.10 ⁵	1,1.10 ⁵	2,47	0,28	0,307	60	129,4
Aplatissement (Fisher)	3,109	2,686	3,345	86,322	29,785	57,561	4,258	17,960	5,735	3,590
Asymétrie (K. Pearson)	0,123	0,009	0,007	52,718	22,098	20,625	0,589	9,928	1,961	0,274
Valeur maximum	19,0	47,10	65,10	7,3.10 ⁶	10 ⁶	57,60	2,75	3,16	343	858,00
Valeur minimum	2,0	22,80	13,80	4,1.10 ⁴	10 ³	20,80	0,78	0,25	8	64,96

TABLEAU 2

Moyenne, écart-type et effectifs des taux d'IgG par classe de délai écoulé depuis le vêlage

Classe intervalle (jours)	Popula- tion A	1 8 à 30	2 31 à 60	3 61 à 90	4 91 à 120	5 121 à 150	6 151 à 180	7 181 à 210	8 211 à 240	9 241 à 270	10 271 à 300	11 301
Moyenne	0,650	0,734	0,602	0,612	0,576	0,633	0,599	0,798	1,050	0,775	1,361	1,428
Ecart-type	0,307	0,291	0,200	0,310	0,209	0,206	0,116	0,177	0,479	0,270	0,745	0,595
Effectif	668	65	107	126	192	112	15	8	7	16	16	4

TABLEAU 3

Relations entre les taux d'IgG et les paramètres qualitatifs

3 a : effet dû à la race. FFPN : française frisonne pie noire.

3 b : effet dû au nombre de lactations antérieures.

3 c : effet de la réaction inflammatoire CMT (California Mastitis test).

La race, à l'inverse du CMT et du nombre de lactations antérieures, n'a pas d'effet sur le taux des IgG.

Tableau 3 a

Classe	Population globale	Race	
		Normande	FFPN
Effectif	670	425	245
Moyenne	0,650	0,639	0,669
Ecart-type	0,307	0,327	0,268

Nombre de degrés de liberté : 668.

Niveau du test d'homogénéité : 0,050.

Réponse : hypothèse d'homogénéité non rejetée.

Tableau 3 b

Classe	Population globale	Numéro de lactation								
		1	2	3	4	5	6	7	≥ 8	
Effectif	670	191	144	121	87	62	25	19	21	
Moyenne	0,650	0,570	0,630	0,631	0,709	0,703	0,735	0,957	0,847	
Ecart-type	0,307	0,328	0,283	0,232	0,404	0,302	0,273	0,513	0,436	

Nombre de degrés de liberté : 662.

Niveau du test d'homogénéité : 0,001.

Réponse : hypothèse d'homogénéité rejetée.

Tableau 3 c

Classe	Population globale	CMT				
		0	+	++	+++	++++
Effectif	670	396	149	75	32	18
Moyenne	0,650	0,574	0,700	0,733	0,831	1,246
Ecart-type	0,307	0,210	0,321	0,304	0,356	0,700

Nombre de degrés de liberté : 665.

Niveau du test d'homogénéité : 0,001.

Réponse : hypothèse d'homogénéité rejetée.

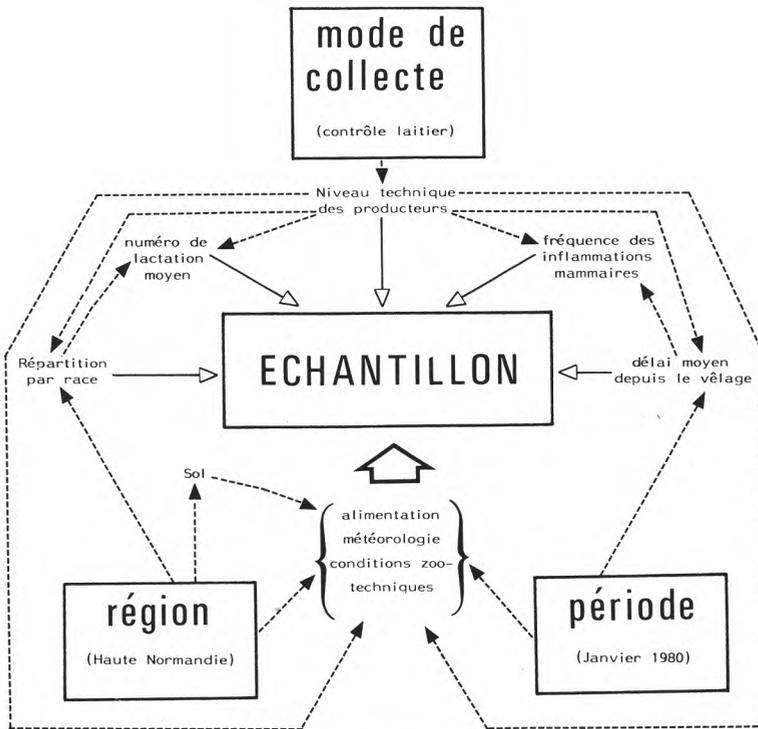


fig. 2

Influence des différents facteurs intervenant sur la composition du lait prélevé.

Les répartitions de probabilité des différentes populations quoique unimodales et présentant une forme en cloche, ne peuvent être ajustées à des répartitions normales (tests négatifs non présentés).

Même lorsque l'on a retiré de la population A les laits de fin de lactation et de mammité, il reste encore des échantillons présentant de manière inexplicable des valeurs très fortes pour le taux des IgG. En l'absence d'une interprétation biologique de ce phénomène, il est impossible de ne pas considérer comme sains les animaux à partir desquels sont prélevés ces échantillons. En conséquence, un nouveau modèle mathématique n'a pu être mis au point et les coefficients de risque seront discutés en fonction de chaque cas.

I.2. COMPARAISON DU TAUX DES IgG AVEC LES PARAMÈTRES QUANTITATIFS

Le tableau 1 donne, sur la population A, à titre indicatif, l'effectif, les moyennes, les écarts-types, l'aplatissement et l'asymétrie de l'histogramme de fréquence ainsi que les valeurs maximum et minimum pour chacun des paramètres quantitatifs. Les effectifs de classe pour les caractères qualitatifs sont indiqués dans les tableaux 3 a, b et c. Les coefficients de corrélation linéaire entre la concentration en IgG et les autres paramètres quantitatifs étudiés, sachant que la deuxième variable du couple cité est considérée comme étant la variable explicative pour la régression linéaire, sont les suivants :

• Délai/IgG : $r = -0,29$; les valeurs extrêmes pour le délai depuis le vêlage sont de 7 j et 345 j. La moyenne est de 100 j. De plus, les prélèvements ont été classés en fonction du délai écoulé depuis le vêlage : (classe n° 1 du 8^e au 30^e j, classe n° 2 du 31^e au 60^e j, ...classe n° 10 du 271^e au 300^e j, classe n° 11 : ≥ 301 ^e j). L'hypothèse d'homogénéité de la population des taux d'IgG rangés selon un tel classement est rejetée à $p < 0,001$ par un test de Fischer-Snedecor. Le tableau 2 montre moyenne et écart-type des taux d'IgG par classe de délai ainsi que les effectifs. Il semble bien apparaître un effet de « cuvette » puisque le taux moyen des IgG baisse de la classe n° 1 à la classe n° 2, reste en plateau jusqu'à la classe n° 6 et remonte ensuite progressivement.

- Litrage/IgG : $r = -0,15$.
- MPT /IgG : $r = 0,27$.
- MG /IgG : $r = 0,08$.
- Lactose/IgG : $r = -0,32$.
- NaCl /IgG : $r = 0,35$.
- Nombre de germe/IgG : $r = -0,04$.
- Nombre de cellules somatiques/IgG : $r = 0,17$.

Cependant, lorsque l'on introduit une contrainte sur une tierce variable, à savoir $\text{NaCl} > 1,96 \text{ g/l}$ ce qui est généralement admis comme étant le reflet d'un désordre de la filtration mammaire [1]

et donc d'un état pathologique, alors, le coefficient de corrélation linéaire entre le nombre de cellules somatiques et la concentration en IgG s'élève à 0,67.

I.3. COMPARAISON DU TAUX DES IgG AVEC LES PARAMÈTRES QUALITATIFS

Les tableaux 3 a, b et c décrivent respectivement l'influence de la race, du numéro de lactation et du résultat du CMT sur le taux des IgG du lait. Il apparaît ainsi que la race, qu'elle soit normande ou française frisonne pie noire (F.F.P.N.), n'a pas de relation avec la teneur en IgG. Par contre, plus la réponse du CMT témoigne d'une réaction inflammatoire prononcée, plus le taux des IgG devient élevé. De même, le nombre de lactations antérieures augmente en même temps que la concentration en IgG. Ce dernier résultat est en contradiction avec celui obtenu par Levieux D. [6] qui n'a pas trouvé de relation entre les deux paramètres.

I.4. BIAIS D'ÉCHANTILLONNAGE

Malgré le grand nombre de laits analysés, les populations choisies ne peuvent prétendre être parfaitement représentatives dans l'absolu.

La figure 2 résume les divers facteurs qui influencent le tirage des prélèvements. Il serait donc intéressant de réaliser des études comparables en faisant varier un ou plusieurs de ces facteurs.

II. Test de détection de la présence de colostrum dans le lait

II.1. SIMULATION DE LAITS DE TROUPEAUX NON COLOSTRAUX

Le tableau 5 indique les valeurs, obtenues pour chaque tranche de volume, de la moyenne et de l'écart-type des taux d'IgG calculés à partir des 30 troupeaux simulés. Le litrage moyen des traites est de 9,3 l. Pour un lait de troupeau simulé, atteignant un volume de 2 000 l, il est nécessaire de tirer au hasard environ le tiers de la population A (# 215 individus). Il a été choisi d'arrêter la simulation à cette tranche de volume car, au delà de 2 000 l, l'écart-type diminue du fait que le nombre de chances pour qu'un individu soit tiré dans plusieurs mélanges simulés différents augmente. Les variations entre les troupeaux simulés deviennent moindres et il s'ensuit une décroissance artéfactuelle de la valeur des écarts-types calculés.

II.2. CHOIX DU RISQUE DE « PREMIÈRE ESPÈCE » : COURBES DE LISSAGE CORRESPONDANTES

Le risque de première espèce détermine la limite supérieure d'un intervalle autour des moyennes des taux d'IgG, calculées pour 30 laits de troupeau appartenant à une tranche de volume donnée ; au-delà de cette limite, le taux des IgG n'est plus considéré comme faisant

partie de la population étudiée, au risque d'erreur choisi. Pour une tranche de volume donnée, la limite supérieure (lim_{sup}) de l'intervalle est de la forme :

$$\text{lim}_{\text{sup}} = m + \alpha \sigma$$

où m et σ sont la moyenne et l'écart-type pour le taux des IgG calculée sur 30 laits de troupeaux et α un coefficient qui, pour une loi de répartition donnée, peut être calculé en fonction du risque d'erreur choisi.

La figure 3 montre l'ensemble des points de coordonnées :

x = valeur limite de la tranche de volume (litres).

$y = \text{lim}_{\text{sup}}$ (g/l) calculée avec $\alpha = 3,1$ (voir tab. 4).

La courbe de lissage tracée à partir de ces points a pour équation :

$$y = \frac{2,30}{\sqrt{x}} + 0,62$$

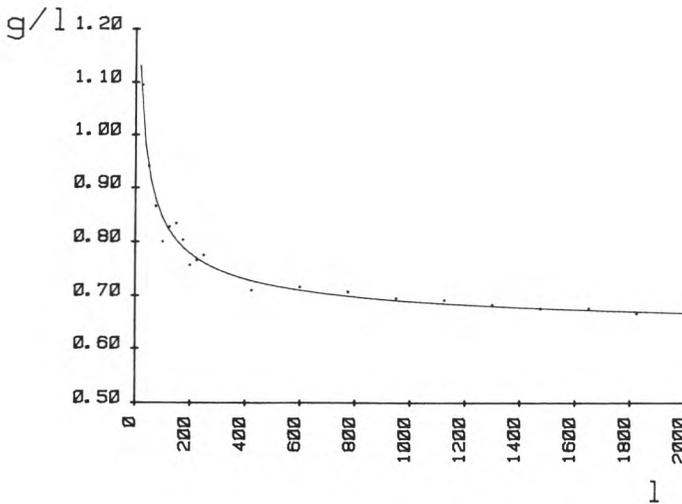


fig. 3

Courbe de lissage obtenue à partir des points calculés pour un

seuil à $p < 0,001$. L'équation de la courbe est : $y = \frac{2,30}{\sqrt{x}} + 0,62$ où :

y est la concentration en IgG au-dessus de laquelle la probabilité de trouver une valeur appartenant à la population considérée est inférieur à 0,001 et x la limite supérieure de la tranche de volume.

TABLEAU 4

Moyennes, écarts-types et valeur de la norme à 1 p. 1000 calculés après simulation de 30 laits de troupeau par tranche de volume

m : moyenne pour le taux des IgG ; σ : écart-type de cette moyenne ;

$\lim_{sup}^{0,001} = m + 3,1\sigma$ ou valeur de la norme à 1 p. 1000 pour la tranche de volume donnée.

Tranche de volume (l)	m (g/l)	σ (g/l)	$\lim_{sup}^{0,001}$ (g/l)
25	0.65	0.15	1.11
50	0.63	0.10	0.94
75	0.63	0.08	0.86
100	0.61	0.06	0.78
125	0.63	0.06	0.82
150	0.64	0.07	0.84
175	0.61	0.06	0.78
200	0.63	0.04	0.76
225	0.63	0.04	0.77
250	0.63	0.05	0.77
425	0.64	0.03	0.72
600	0.65	0.03	0.73
775	0.63	0.03	0.71
950	0.64	0.02	0.70
1 125	0.64	0.02	0.70
1 300	0.63	0.02	0.68
1 475	0.64	0.02	0.68
1 650	0.63	0.02	0.68
1 825	0.63	0.01	0.67
2 000	0.63	0.01	0.67

II.3. DÉFINITION DE LA « NORME » POUR LE TAUX DES IgG DANS DES LAITS DE TROUPEAUX DE VOLUME VARIABLE

La figure 4 donne, à titre d'exemple, les histogrammes de fréquence des taux d'IgG pour les 30 laits de troupeaux simulés, dans les tranches de volume extrêmes de l'étude, à savoir 25 et 2 000 l.

Les tests d'ajustement à la loi normale de la répartition des 30 taux d'IgG obtenus pour une tranche de volume donnée, produisent des réponses satisfaisantes seulement pour les grands volumes (résultats non présentés). Ceci est dû au fait que la dilution diminue l'effet des laits à fort taux d'IgG, en d'autres termes que la répartition des valeurs des moyennes calculées à partir de sous-ensembles de n individus extraits d'une population non Gaussienne est d'autant plus proche de la loi normale, que n croît (théorème central limite).

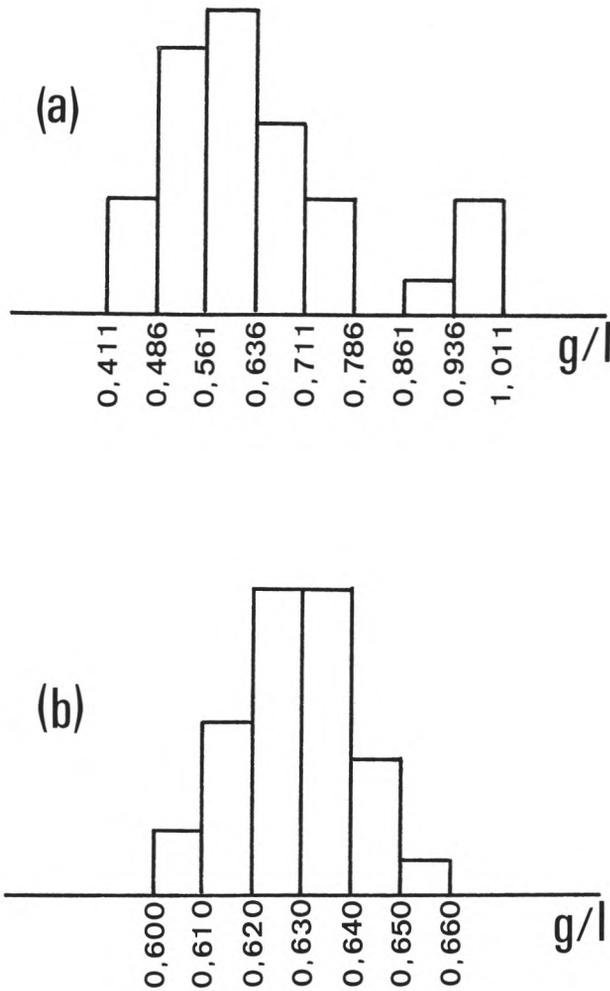


fig. 4

Histogrammes de fréquence des valeurs du taux des IgG sur 30 laits simulés (cf. *texte*) pour les tranches de volume (a) 25 l et (b) 2000 l.

Il est toujours possible de fixer une valeur numérique pour le coefficient α . Cependant, en théorie, seul un ajustement correct de la loi de probabilité observée avec une loi théorique connue permet d'établir une correspondance entre la valeur numérique attribuée à α et le risque d'erreur. En toute rigueur, ceci n'est même possible, en l'état actuel de nos connaissances, que si la loi de probabilité est une

TABLEAU 5

Concentration en matières protéiques totales (MPT)
et en immunoglobulines G (IgG) dans les onze premières traites d'une vache
(population C, voir texte)

Numéro de la traite	MPT (g/l)	IgG (g/l)
1	113,3	77,5
2	84,75	50,0
3	53,1	18,3
4	48,1	9,2
5	48,4	4,7
6	48,6	3,8
7	47,7	2,1
8	46,9	2,35
9	46,9	2,15
10	45,7	1,67
11	44,9	1,59

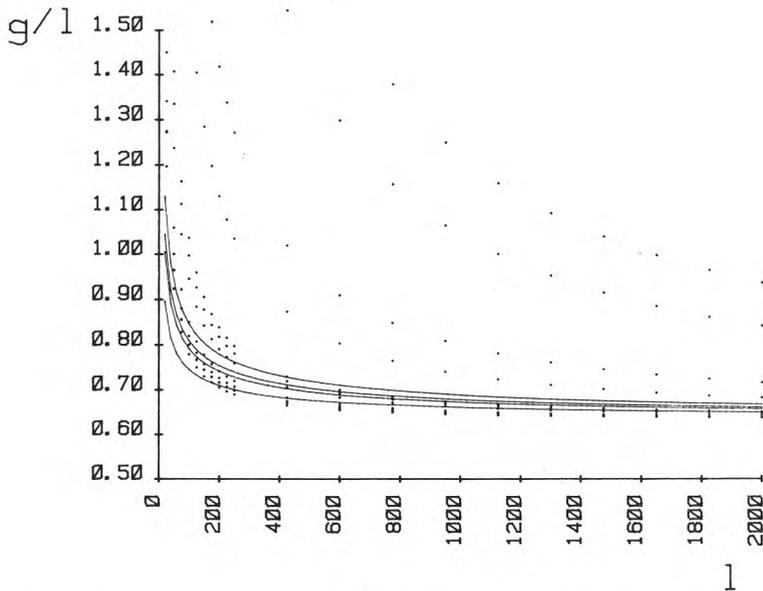


fig. 5

Comparaison des normes à 5, 1, 05 et 0,1 p. 100 avec des laits de troupeaux fictifs constitués de la manière suivante : à une fourniture de lait ayant pour concentration des IgG la moyenne pour cette valeur dans la tranche de volume considérée, est apportée l'une des onze premières traites d'une vache (colostrum). Les points ainsi obtenus sont figurés sur un schéma représentant les quatre normes. Si le point est au-dessus d'une des courbes, alors la fourniture de lait est considérée comme contenant du colostrum avec le risque d'erreur correspondant.

loi normale. Dans le cas présent, la correspondance entre le risque d'erreur tiré de la distribution de Laplace-Gauss et la valeur numérique fixée pour α n'est valable que pour les grands volumes, en pratique, à partir de 2 000 l : à cette restriction près, pour $\alpha = 3,1$, le risque de se tromper en répondant que le lait de mélange testé n'appartient pas à la population étudiée est : $p = 0,001$ ou encore 0,1 p. 100.

La norme à $p = 0,001$ pour le taux des IgG dans les laits de mélange est constituée par $\lim_{\text{sup}}^{0,001}$. Ainsi pour un volume quelconque, cette limite peut être tirée de l'équation de la courbe de lissage énoncée au paragraphe II.2. en prenant :

$$y = \lim_{\text{sup}}^{0,001} \text{ en g/l et}$$

$x = \text{volume en litres.}$

II.4. PUISSANCE DU TEST, COMPARAISON DES NORMES A 5 ; 1 ; 0,5 ET 0,1 P. 100 D'ERREUR

Le tableau 5 donne le taux des IgG dans la population C ainsi que la concentration en MPT. La figure 5 montre graphiquement la position de laits de mélange additionnés d'une traite colostrale par rapport aux normes à 5 ; 1 ; 0,5 et 0,1 p. 100. L'effet de dilution augmente rapidement et l'adjonction au mélange fictif de colostrum de la 5^e à la 11^e traite, donne des résultats pratiquement comparables à partir de 900 l. Par contre, les quatre premières traites peuvent être détectées mêmes diluées au-delà du 1/200^e (mélanges de 2 000 l).

Pour un volume de 2 000 l, les valeurs des normes à 5 et à 0,1 p. 100 ne diffèrent que de 0,02 g/l d'IgG. Ce fait prouve que le domaine de variations des taux normaux d'IgG dans des laits de mélange est très peu étendu. La différence de valeurs entre les deux normes est, par ailleurs, inférieure au coefficient de variation de la technique pour l'ordre de grandeur des valeurs absolues : 5 p. 100 à 0,70 g/l [5].

II.5. SPÉCIFICITÉ DU TEST

La comparaison des taux d'IgG de deux laits de troupeau par tranche de volume, simulés à partir de la population E avec les quatre normes (Cf. « Résultats : II.4 ») est présentée dans la figure 6. Les laits de troupeau constitués uniquement de vaches en fin de lactation montrent des taux d'IgG supérieurs aux normes de risque choisi. Le faible nombre d'échantillons prélevés à plus de 240 j de lactation interdit la réalisation d'une simulation analogue à celle menant à l'établissement des normes. Cependant, au moins dans les régions où les vêlages sont groupés, la fréquence élevée des femelles en fin de lactation n'intéresse qu'une brève période de l'année pendant laquelle le test doit être traité différemment.

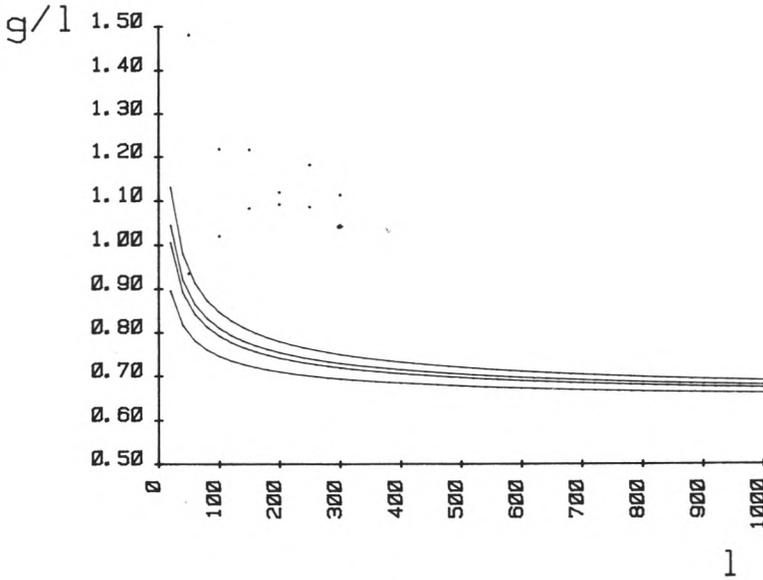


fig. 6

Comparaison des quatre normes (5, 1, 0,5 et 0,1 p.100) avec des laits de mélange simulés constitués uniquement de prélèvements opérés sur des vaches en fin de lactation.

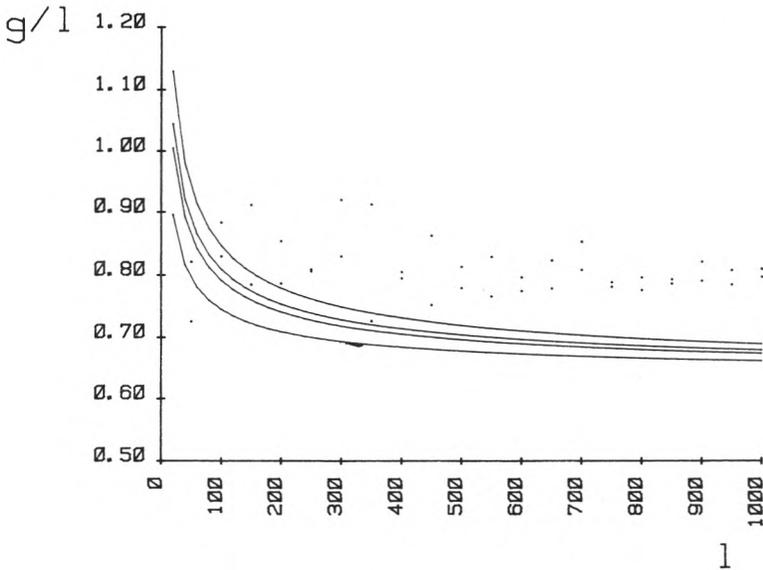


fig. 7

Comparaison des quatre normes (5, 1, 0,5 et 0,1 p.100) avec des laits de mélange simulés constitués uniquement de prélèvements opérés sur des vaches présentant des signes subcliniques d'inflammation mammaire (CMT $\geq 2+$).

La figure 7 compare les quatre normes avec deux mélanges de laits tirés au hasard dans la population F ($CMT \geq 2 +$), pour chaque tranche de volume. Les taux d'IgG obtenus pour ces troupeaux de vaches mammites se situent également au-delà des quatre normes choisies. Il s'agit là de cas extrêmes, tous les laits constituant le mélange simulé étant pathologiques. Le tableau 6 indique, par classe de nombre de cellules somatiques, les effectifs des troupeaux français (source ITEB [3]) et les effectifs à l'intérieur de la population A. La divergence observée entre les résultats dans les deux populations peut être due au fait que les valeurs données par l'ITEB sont obtenues à partir de laits de troupeaux tandis que la population A représente des laits individuels. Cependant, il est également possible que la population A soit dans un meilleur état sanitaire que le cheptel français en moyenne, du fait des variations aléatoires tenant au tirage des étables.

TABLEAU 6

Comparaison des nombres de cellules somatiques par ml dans les fournitures de lait des troupeaux français (relevé national source : Institut Technique de l'Elevage Bovin : I.T.E.B. [3]) et dans la population A, 670 laits non colostraux

		Classes de nombre de cellules somatiques (en cellules par ml)				
		0 à $4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$ à $5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$ à 10^6	10^6 à $1,5 \cdot 10^6$	$> 1,5 \cdot 10^6$
Fréquence (p. 100)	Troupeaux français	55	10	24	7	4
	Population A	76	6	13	2	3

Dans des cas extrêmes, des laits de mélange non colostraux peuvent montrer des taux d'IgG largement supérieurs aux normes à 5 p. 100, 1 p. 100, 0,5 p. 100 et même 0,1 p. 100 d'erreur. De plus, les autres caractères analysés tels que le nombre de cellules ou la concentration en NaCl, ne permettent pas de différencier des laits de fin de lactation et les laits de mammites de laits colostraux, car dans tous les cas, ces paramètres subissent des variations analogues.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Lebreton *et al.* [5] ont constaté, lors de la mise au point de la technique de dosage des IgG dans le lait par immunonéphélométrie, une légère discordance entre les valeurs se situant dans le milieu de la courbe standard et celles se situant vers les valeurs fortes. L'effet de ce type d'incertitude, lié à la technique, se trouve englobé parmi les variations aléatoires prises en compte par l'interprétation statistique. Il faut cependant souligner que tous les dosages d'IgG ont été réalisés à partir d'une dilution au 1/2 du lactosérum, lors de la comparaison avec la norme choisie et déterminée dans cette étude. Il sera nécessaire d'utiliser cette dilution de préférence à toute autre, dans la mesure où le résultat se trouvera dans les limites de la gamme étalon.

La moyenne des taux des IgG mesurés par immunonéphélométrie dans la population A (670 laits non colostraux) est de 0,65 g/l ; celui observé pour la population D (fin de lactation), E (laits de mammite) et F (laits « sains ») est respectivement de 1,26 g/l, 0,83 g/l et 0,59 g/l. Lorsque la technique laser-néphélométrique a été comparée à l'immunodiffusion radiaire pratiquée avec le même immunsérum anti-IgG bovines, les moyennes obtenues furent : $IgG_{L.N} = 0,66$ g/l et $IgG_{ID.R.} = 1,01$ g/l. Les taux moyens d'IgG déterminés par immunodiffusion radiaire, à l'aide d'immunsérums différents et de solutions d'IgG standard différentes, dans des laits normaux, relevés à travers la littérature, présentent une grande variabilité : IgG totale : 0,42 g/l (D.F. Newstead et J.E. Ormsby [8]), IgG1 : 1,15 g/l (E. Butler [2]), IgG1 : 0,35 g/l (J.P. Mach et J.J. Pahud [7]). Tous ces faits montrent que l'établissement d'une moyenne normale du taux des IgG chez des individus et dans des troupeaux présente des risques de variation selon un grand nombre de facteurs : technique utilisée, immunsérums, antigène de référence et choix de la population des échantillons.

Les limites de cette technique de détection de la présence de colostrum dans les laits de mélange sont les suivantes :

1. La différence légale entre la nature du lait et celle du colostrum est totalement arbitraire car la transition entre ces deux productions de la mamelle est graduelle et ne correspond pas à un fait biologique tranché. Quelle que soit la technique employée, la distinction entre colostrum des 5^e et 6^e j d'une part, et lait du 7^e j après le vêlage, à fortiori dilués dans du lait normal, restera délicate.

2. Les IgG sont dénaturées par la chaleur [1]. Aussi, la technique ne peut-elle être appliquée à des laits chauffés.

3. Il n'est pas possible de distinguer, dans les situations extrêmes, les laits pathologiques (mammite, rétention lactée ou fin de lactation) de colostrums très dilués dans des laits normaux.

La technique doit permettre néanmoins d'effectuer un premier tri rapide et fiable permettant de distinguer les laits non colostraux certains, les laits suspects de contenir du colostrum et les laits contenant avec certitude du colostrum. L'expérience montre que des fournitures de lait de mélange de grand volume (> 2 000 l), livrées aux industriels, présentent des taux d'IgG atteignant 5 g/l [4], soit très largement supérieurs aux plus fortes valeurs simulées à partir de mélanges de laits de mammite et de fin de lactation.

Remerciements

Nous tenons à remercier le Laboratoire Interprofessionnel du lait de Haute-Normandie qui nous a fourni les échantillons de lait, M. Tailleux A., appartenant à cet organisme pour son excellente assistance technique.

Ce travail a été financé par le contrat D.G.R.S.T., n° 81 J 0125.

N.B. : Ce travail a été présenté, en partie, au Symposium Emil V. Behring « Les Journées Internationales de néphélogéométrie », Paris : 21-22-11-80.

Résumé

Sept cents échantillons de lait individuel et 11 de colostrum ont fait l'objet d'une étude intéressant des caractères qualitatifs : race, numéro de lactation, coagulabilité au teepol (CMT) et des caractères quantitatifs : volume de la traite d'origine, délai écoulé depuis le vêlage, concentrations en matières protéiques totales (MPT), matières grasses (MG), NaCl, lactose, immunoglobulines G (IgG), nombre de cellules somatiques et de germes microbiens par unité de volume. Une analyse statistique sur micro-ordinateur a été réalisée comportant : la description de l'ensemble des informations, la simulation des laits de troupeaux de volumes donnés et la détermination d'une norme théorique à un risque d'erreur choisi pour le taux des IgG en fonction du volume de la fourniture de lait. Un test de comparaison entre une valeur de la concentration des IgG d'une fourniture de lait quelconque et la norme théorique a été mis au point en vue de la détection de la présence de colostrum. La puissance et la sécurité de ce test ont été soumises à une analyse critique, afin de déterminer les limites d'application de la méthode.

Summary

IMMUNONEPHELOMETRIC ASSAY OF IMMUNOGLOBULINS G IN COW MILK: II-DETECTION OF THE PRESENCE OF COLOSTRUM IN HERD MILK

Quantitative parameters: breed, number of calving, California Mastitis test (CMT), and quantitative parameters: volume of the milking from which the sample was taken, time elapsed from the

calving, whole protein, lipid, ClNa, lactose, immunoglobulin G (IgG) level, leukocyte and bacteria concentration were studied in 700 samples of individual milks and 11 colostrums. A statistical analysis, performed on a microcomputer, consisted of the descriptive study of the bulk of the informations, the simulation of herd milks of given volumes and the determination of a theoretical volume-depending norm of IgG level for each chosen risk of error. In order to permit the detection of the presence of colostrum, a comparison test between the IgG level of an any herd milk and the theoretical norms was established. Sharpness and reliability of this test were examined in view to precise the limits of the method.

Reçu pour publication en juin 1981.

Bibliographie

- [1] ALAIS (C.) (1974). — In « Science du lait », Sep Editions, 3^e édition.
- [2] BUTLER (J. E.) (1971). — Review of the bovine immunoglobulins. *J. Dairy Sci.*, 54, 1315.
- [3] Documentation I.T.E.B. (Institut Technique de l'Élevage Bovin), 1979.
- [4] JOISEL (F.), VAN BAAR (E.), LANNUZEL (B.), BOUTLEUX (S.), LEBRETON (J. P.) et SAUGER (F.) (1981). — Dosage immunonéphélométrique des immunoglobulines G dans le lait de vache. III. Estimation indirecte du taux des matières protéiques solubles dans les laits de mélange. (Manuscrit en préparation).
- [5] LEBRETON (J. P.), JOISEL (F.), BOUTLEUX (S.), LANNUZEL (B.) et SAUGER (F.) (1981). — Dosage immunonéphélométrique des immunoglobulines G dans le lait de vache. I: Mise au point technique du dosage. *Le Lait*, 61, 465-480.
- [6] LEVIEUX (D.) (1978). — Evolution des immunoglobulines G1 du lait de vache au cours des 4 premiers mois de lactation : mesure dans neuf étables du Puy-de-Dôme. *Bull. Techn. C.R.Z.V., Theix-I.N.R.A.*, 33, 47-52.
- [7] MACH (J. P.) and PAHUD (J. J.) (1971). — Secretory IgA, a major immunoglobulin in most bovine external secretions. *J. Immunol.*, 106, 552.
- [8] NEWSTEAD (D. F.) and ORMSBY (J. E.) (1970). — A new test for the detection of colostrum in herd milk. *New Zealand J. Dairy Sci. Techn.*, 5, 52-66.
- [9] RANDOLPH (H. E.), ERWIN (R. E.) and RICHTER (R. L.) (1974). — Influence of Mastitis on properties of milk. VII. Distribution of milk proteins. *J. Dairy Sci.*, 57, 15-18.