

# MAMOVICAP

Résultats d'une sélection  
divergente sur les CCS  
chez la chèvre à l'Unité expérimentale  
de Bourges



C.Huau/ R Rupp – Journée de restitution caprine, 7 mars 2017



# Les objectifs des travaux de recherche menés à l'UE INRA de Bourges (Mamovicap)

- **La sélection sur les CCS est-elle efficace sur la résistance aux mammites ?**
  - Est-ce que ça marche chez la chèvre ?
  - Y a t-il un risque associée à une sélection vers les plus faibles valeurs de CCS?
- **Outils innovants d'intervention et d'aide à la décision pour la maîtrise des mammites en élevage de petits ruminants laitiers**
  - « on a testé » : la bactériologie par biologie moléculaire & morphologie de la mamelle par traitement d'image?



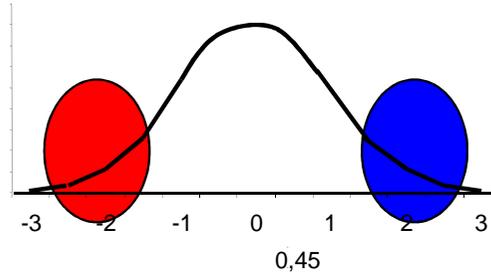
**LIGNÉES DIVERGENTES SUR L'INDEX CCS  
& PHÉNOTYPAGE FIN**

## *Partie I.*

*La sélection sur les CCS est-elle efficace sur la résistance aux mammites ?*

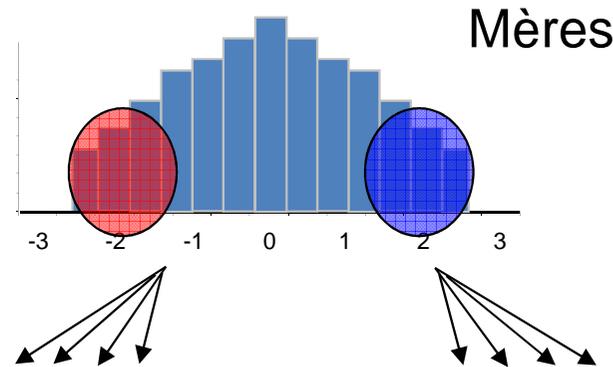
# Procréation de lignées divergentes CCS (Principe)

Population de males  
d'IA, testés sur  
descendance



Mâles  $\approx 2 \times [4-6]/\text{an}$   
Indexation CCS

Unité expérimentale  
INRA  
Race Alpine



Effectifs

Lignée CCS+  
(Sensibles aux  
mammites ?)

Lignée CCS-  
(Résistantes aux  
mammites ?)

Chèvres (2010-2014)

138

128

contrôles laitiers

2075

2011

pères

33

35

# Lien CCS - bactériologies des laits chez la chèvre ?

**3678 analyses de bactériologie conventionnelles (2010-2013)**

Laboratoire Départemental du Cher

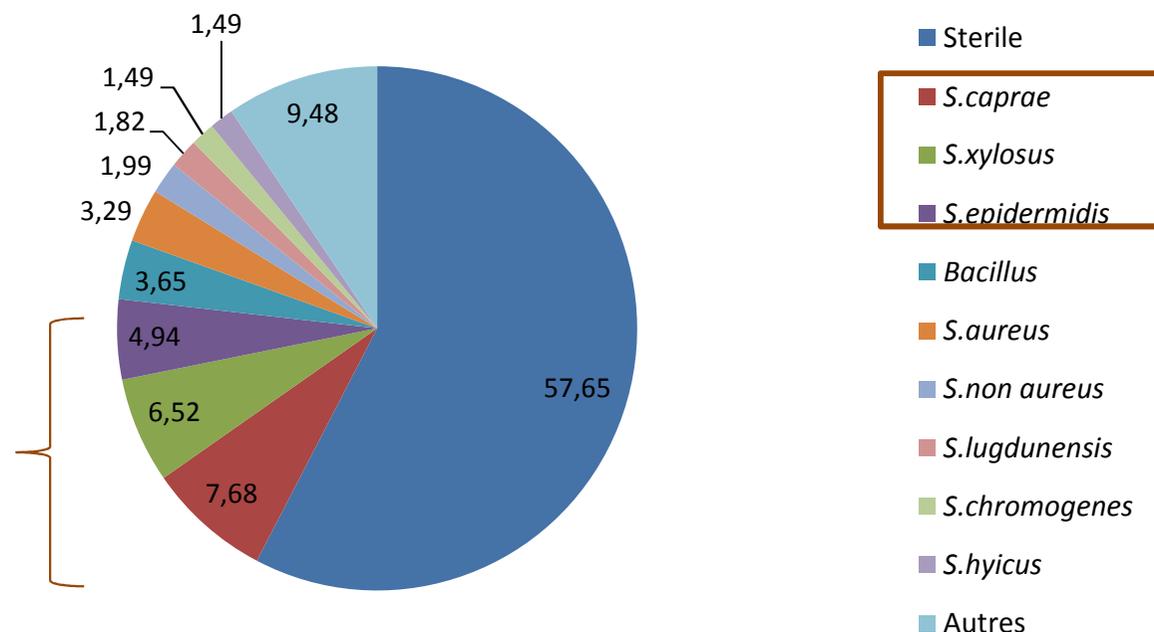


Figure 14 : Les principaux germes rencontrés

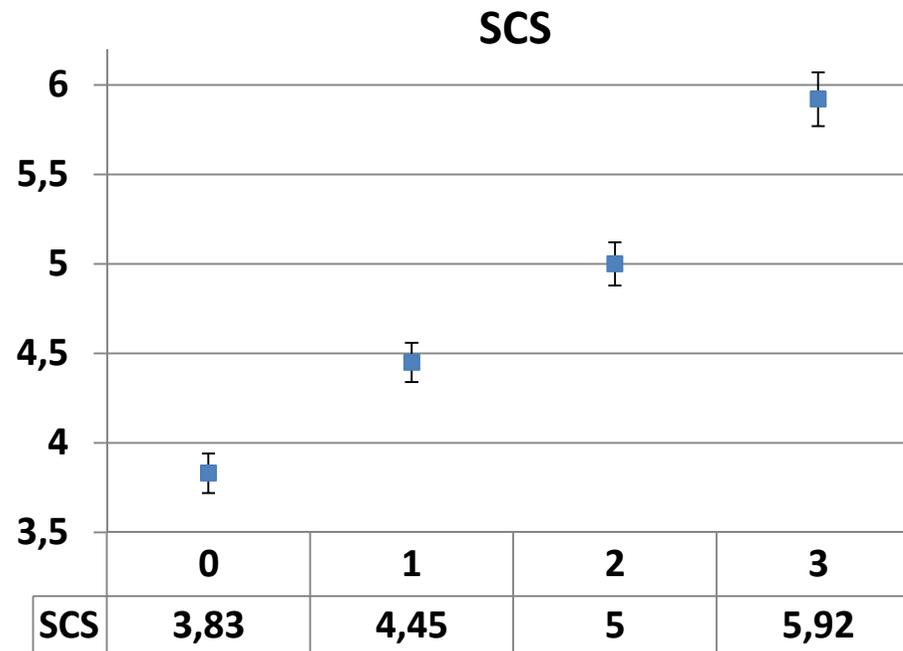
42% des prélèvements sont positifs. Les principaux germes sont des Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN)

# Lien CCS - bactériologies des laits chez la chèvre ?

*Définition d'un score pour le statut bactériologique de la mamelle*

0	1	2	3
aucune mamelle infectée	1 mamelle infectée qté germes <100 pas de S.aureus	1 mamelle infectée qté germes <100 S.aureus	1 mamelle infectée qté germes >100 S.aureus
		1 mamelle infectée qté germes >100 pas de S.aureus	2 mamelles infectées qté germes <100 S.aureus
		2 mamelles infectées qté germes <100 pas de S.aureus	2 mamelles infectées qté germes >100 pas de S.aureus
			2 mamelles infectées qté germes >100 S.aureus

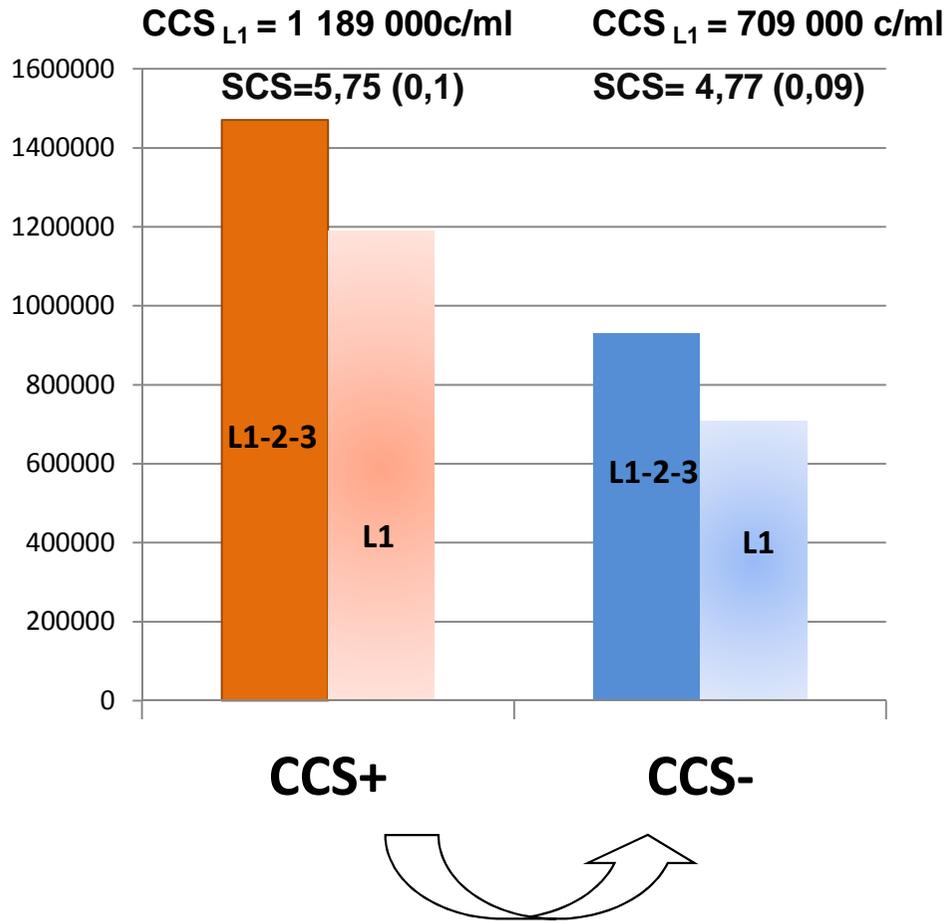
# Lien CCS - bactériologies des laits chez la chèvre ?



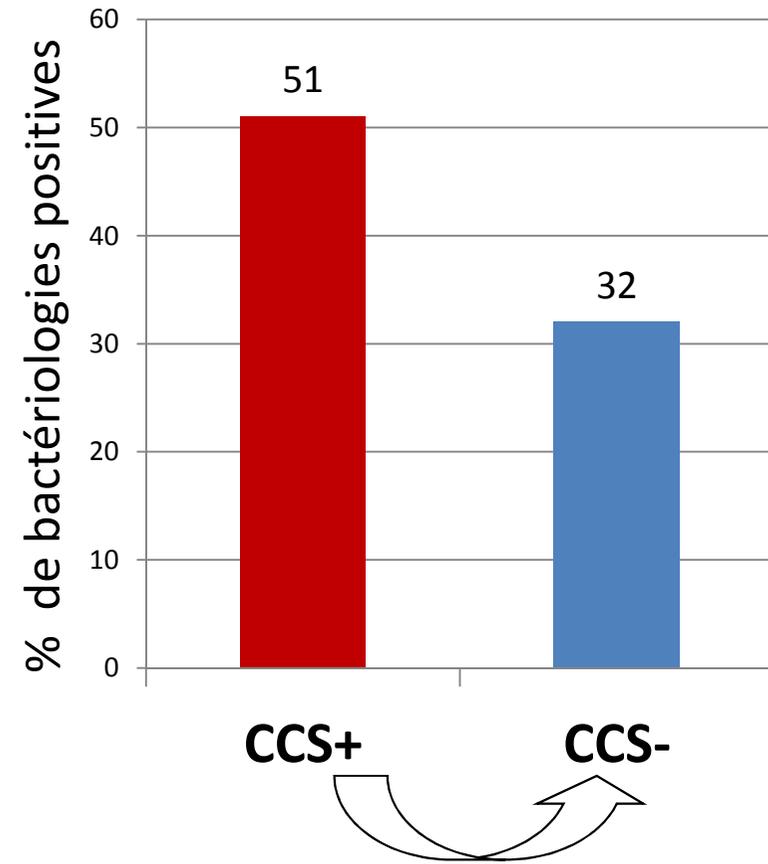
Effet du statut bactériologique de la mamelle sur le SCS

- ⇒ Le CCS est un bon prédicteur du statut infectieux de la mamelle
- ⇒ Les mamelles « saines » ont peu de cellules

# Effet de la sélection sur les CCS



=> diminution de moitié de la moyenne géométrique des CCS



⇒ diminution de 37 % de laits « positifs »

***Partie II.***  
***Utilisation de la biologie  
moléculaire pour quantifier les  
bactéries dans le lait***

# Méthode conventionnelle d'analyse des bactéries du lait

Jusqu'à maintenant, méthode conventionnelle comprenant une approche culturale bactérienne et une identification biochimique (7 étapes).



Coques Gram + type  
*Staphylococcus*



*Galleries ID32 Staph (bioMérieux) :*  
identification de l'espèce des  
bactéries appartenant au genre  
*Staphylococcus*

## Nombreuses limites :

- Nécessité de congeler à  $-80^{\circ}\text{C}$  les échantillons pour préserver au mieux les bactéries
- Exclut les bactéries non cultivables
- Base de données pour le diagnostic en santé humaine => moins complète pour le diagnostic vétérinaire
- Identification biochimique insuffisante pour distinguer les espèces SCN
- De plus, cette méthode en 7 étapes prend du temps : traitement de 25 laits par semaine

# Analyse moléculaire = Alternative à la méthode conventionnelle

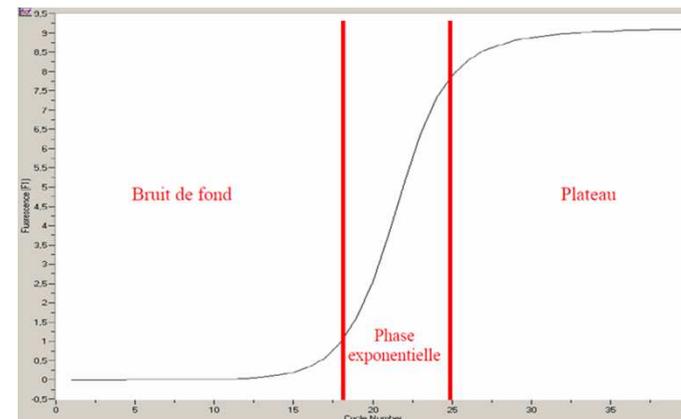
Cette méthode consiste à détecter et quantifier l'ADN bactérien présent dans le lait basée sur l'amplification d'ADN bactérien par qPCR (G. Foucras et al., ENVT)

## Avantages :

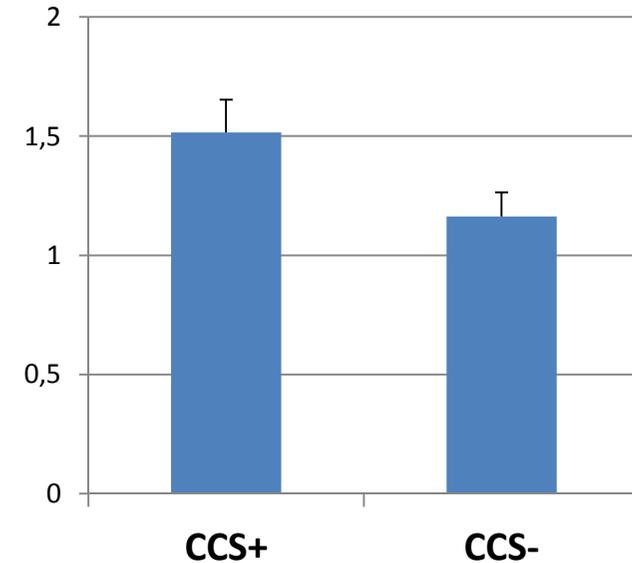
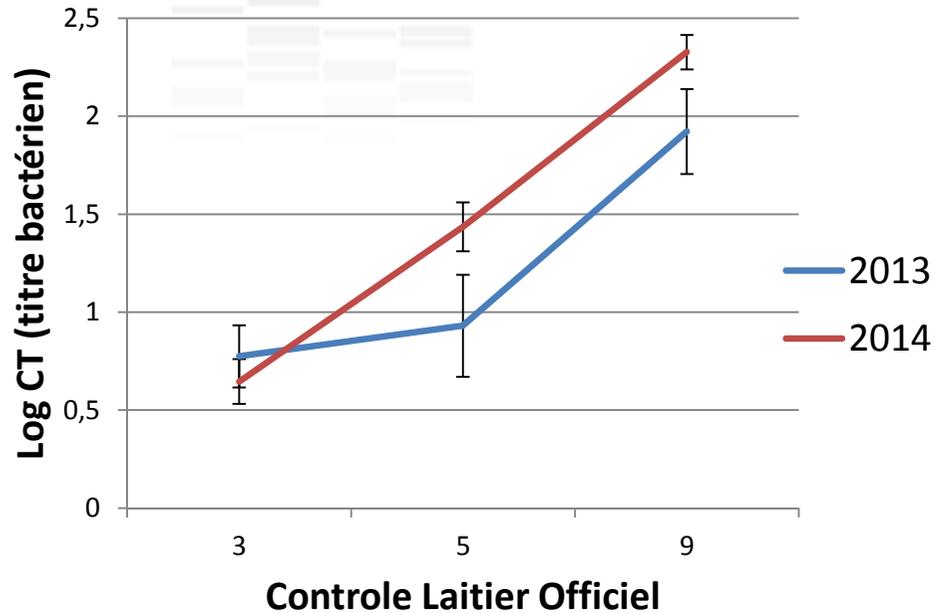
- Une congélation à  $-20^{\circ}\text{C}$  suffit
- Différencie la bactérie majoritaire responsable de l'infection des autres

La **PCR quantitative** (qPCR) en temps réel permet de suivre en continu le processus d'amplification PCR en détectant la fluorescence émise par les produits néo formés. Plus il y a de molécule d'ADN cible à l'origine plus le nombre de cycles nécessaires pour atteindre un nombre déterminé sera réduit (CT).

A partir du CT, on quantifie le nombre de molécules d'ADN cibles.



# Résultats sur les lignées



L'analyse des échantillons de lait par la technique de biologie moléculaire permet de mettre en évidence des évolutions significatives :

- ✓ une augmentation du titre bactérien au cours de la lactation ( $p < 0,001$ ) (1 à 1,7 log)
- ✓ une différence ( $p = 0,02$ ) de titre bactérien (staph) entre les **lignées** (0,4 log)

**La lignée CCS- (résistante) présente des titres bactériens inférieurs.**

## Conclusions PCR quantitative

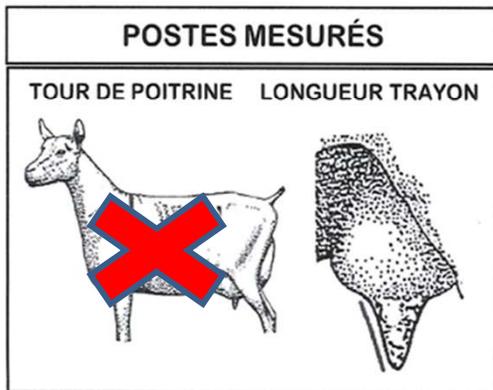
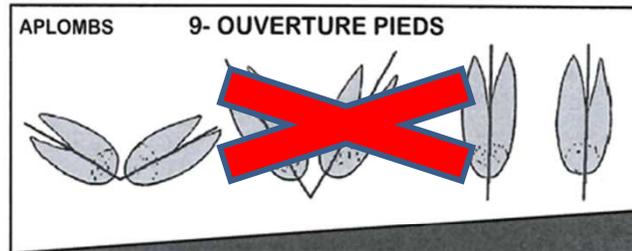
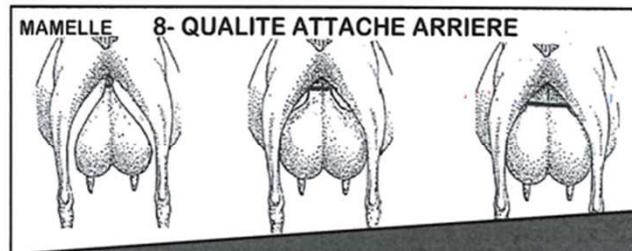
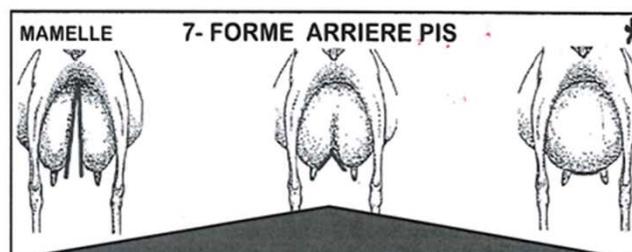
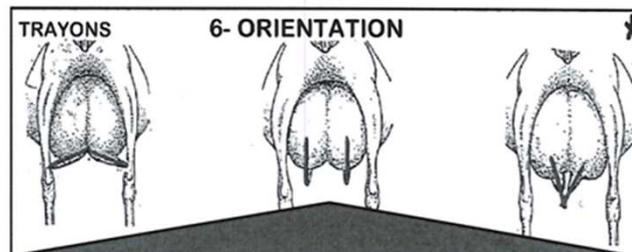
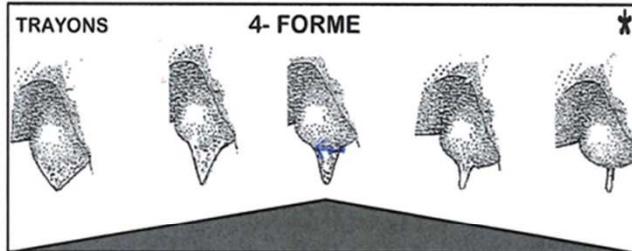
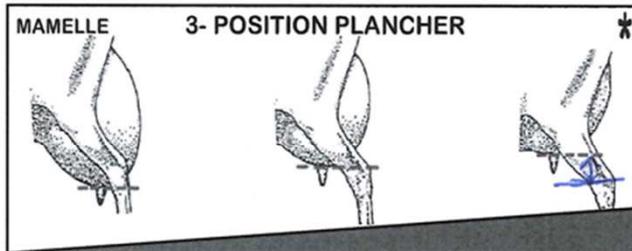
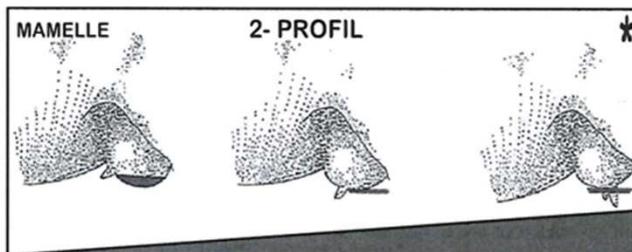
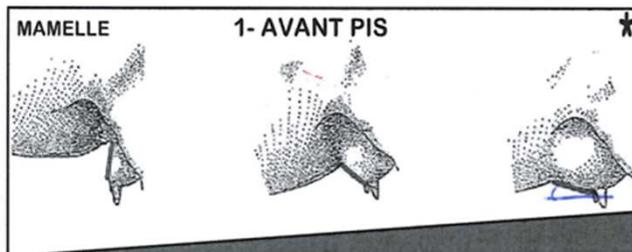
- Possibilité de haut débit pour le traitement des échantillons de lait par la technique de biologie moléculaire. Reste couteux ( $\approx$  10 euros)
- Interprétation du titre bactérien cohérent avec les résultats de l'analyse bactériologique conventionnelle : mais peu d'échantillons totalement négatifs (<15%) suggérant une plus grande sensibilité.
- Augmentation importante du titre bactérien des échantillons de lait au cours de la lactation (1-1,8 log)
- Différence significative entre lignées CCS

***Partie III.***  
***Caractérisation morphologique de  
la mamelle et des trayons : apports  
du traitement d'images***

# GRILLE DE POINTAGE DES REPRODUCTEURS CAPRINS 2010



CAPGENES  
 2135, Route de Chauvigny  
 86550 Mignaloux-Beauvoir - France  
 Tél. 33(0)5 49 56 10 75 - Fax. 33(0)5 49 56 46 53  
 E-mail : capgenes@capgenes.com



1 5 9

\* Détail des notes au verso

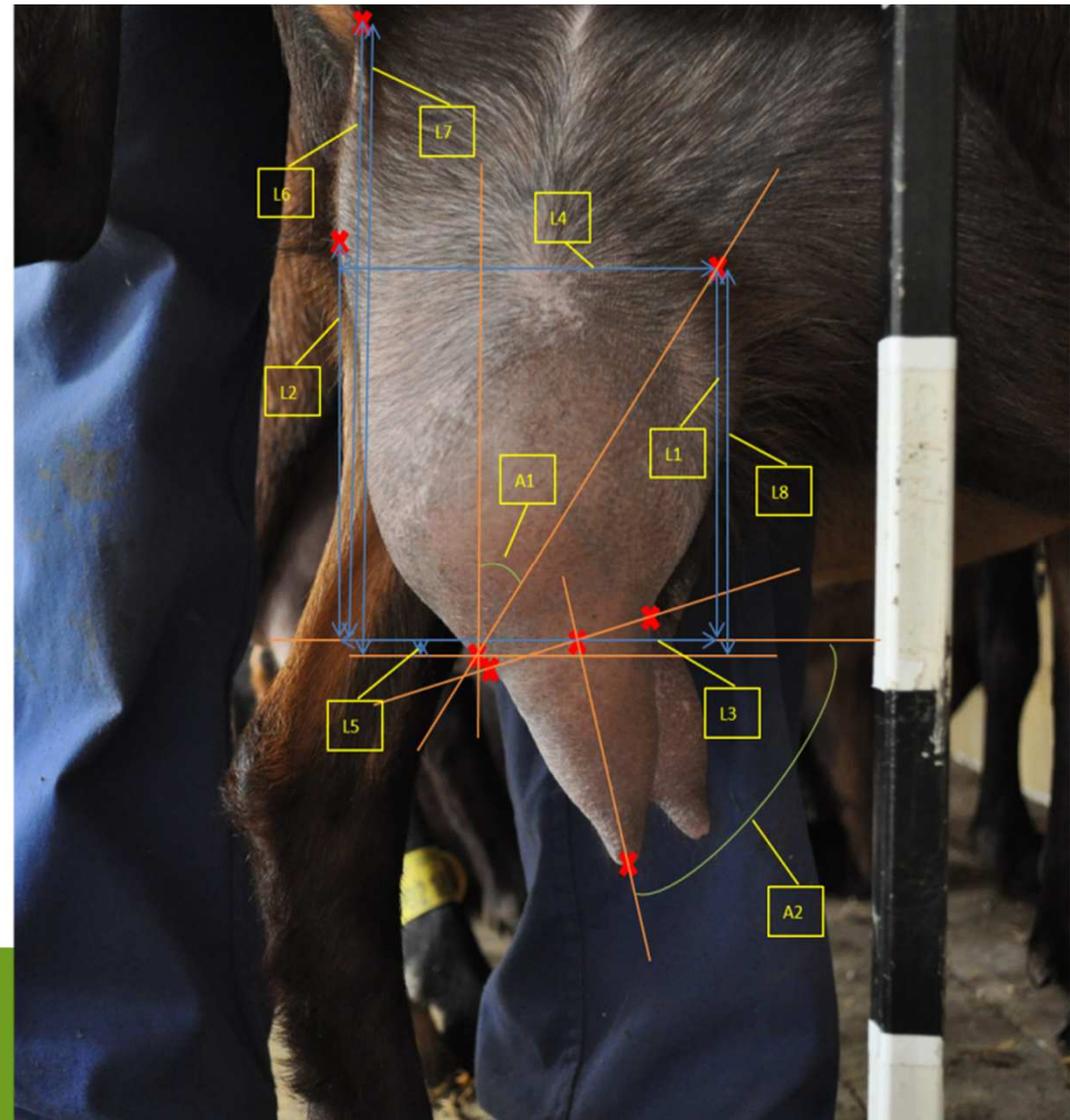
# Photos morphologiques mammaire (caprin)

- ✓ Ecriture d'un programme afin d'obtenir une caractérisation morphologique de la mamelle et des trayons de chèvres par analyse d'images (fin2012)
  - ❖ Définition des 4 macros spécifiques caprines (*à partir du travail fait en brebis*)

- Macro côté

## Macro « Coté »

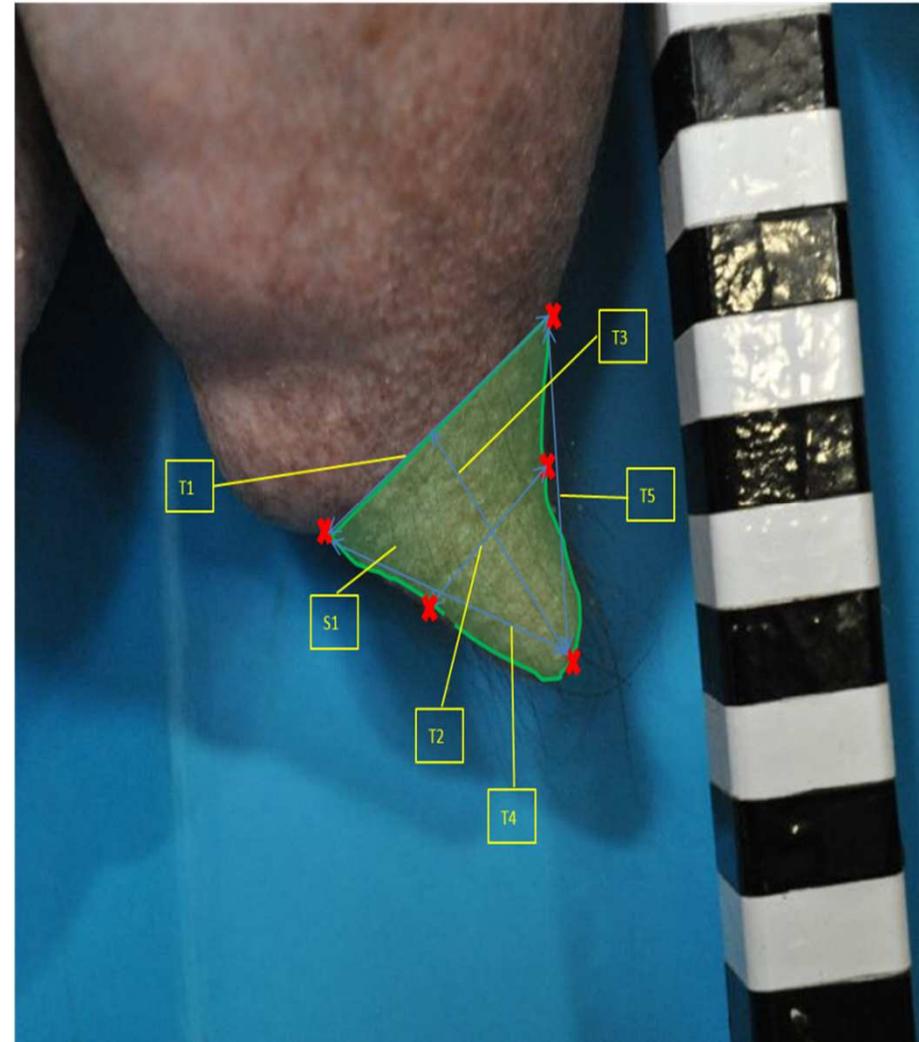
Dist\_Trayon\_Avant = L1  
Dist\_Trayon\_Arriere = L2  
Avant\_arrie\_trayon = L3  
Prof\_Mam\_attache = L4  
Haut\_Pi\_trayon = L5  
Haut\_trayon\_aisne = L6  
Haut\_Pi\_aisne = L7  
Haut\_Pi\_attache = L8  
Angle\_attachav = A1  
Angle\_tray = A2



## ■ Macro trayons

### Macro « Trayon »

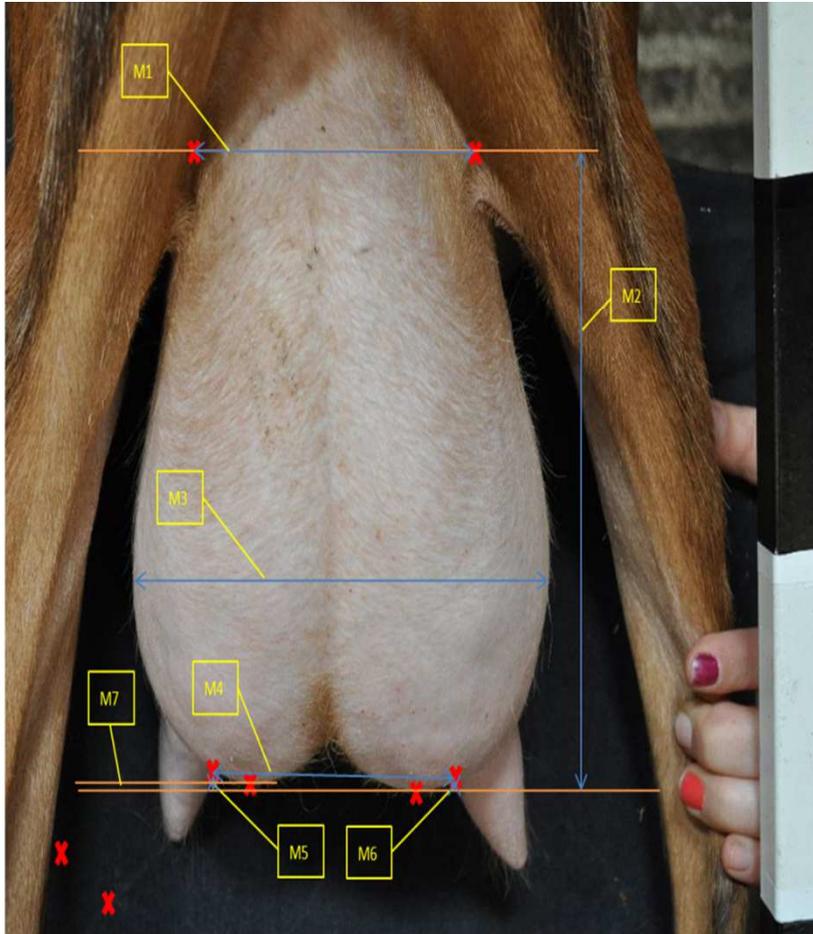
Grde\_Larg\_Try = T1  
Mid\_Larg\_Try = T2 largeur du  
trayon en son milieu  
Surf\_Try = S1 surface du  
trayon  
Long\_Try = T3  
Long\_G = T4  
Long\_D = T5



- Macro mamelle

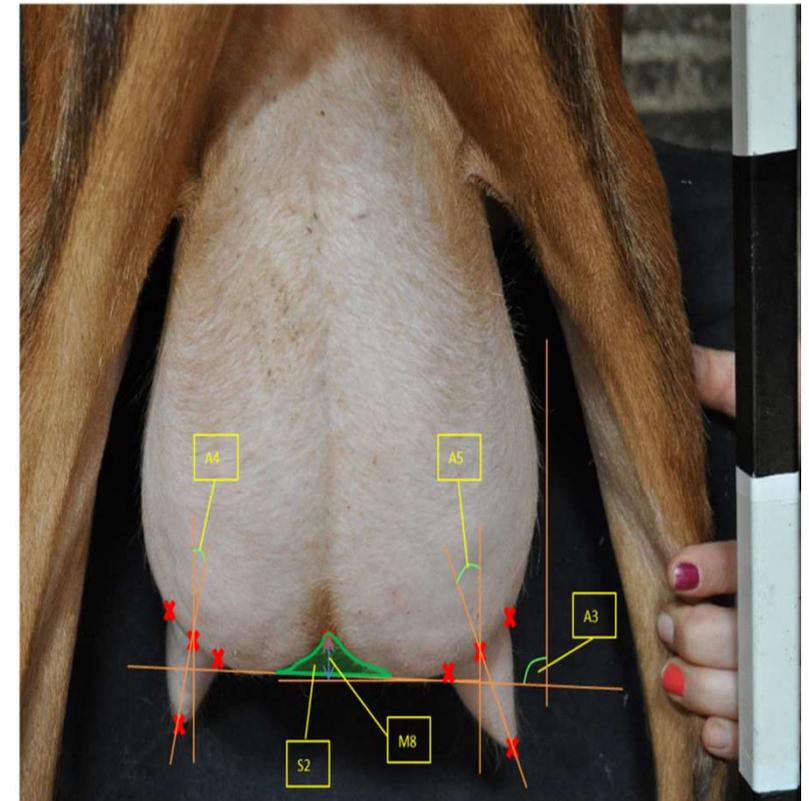
Macro « Mamel » (1/2)

Larg\_AT = M1  
 Haut\_AT = M2  
 Larg\_MAX = M3  
 Larg\_Try = M4  
 Cit\_G = M5  
 Cit\_D = M6  
 Ecart\_CIT = M7



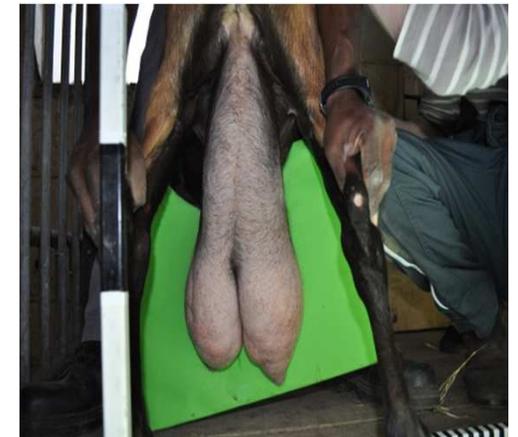
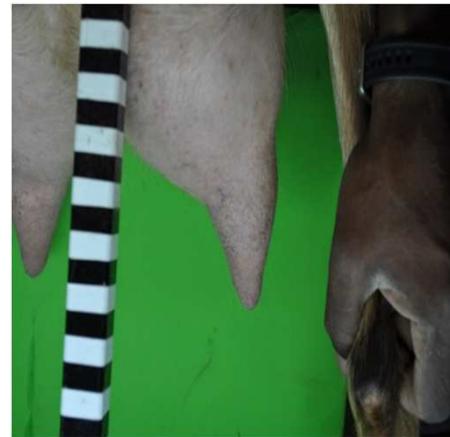
Macro « Mamel » (2/2)

Equil\_M = A3  
 H\_Sillon = M8  
 S\_Sillon = S2  
 Ang\_Try\_G = A4  
 Ang\_Try\_D = A5

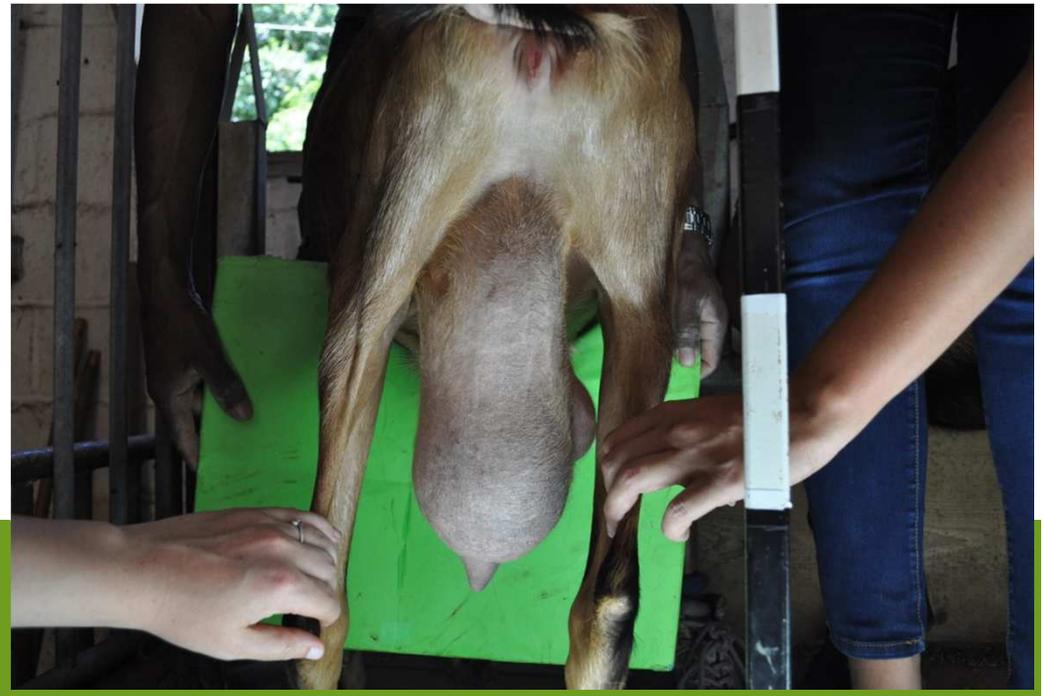
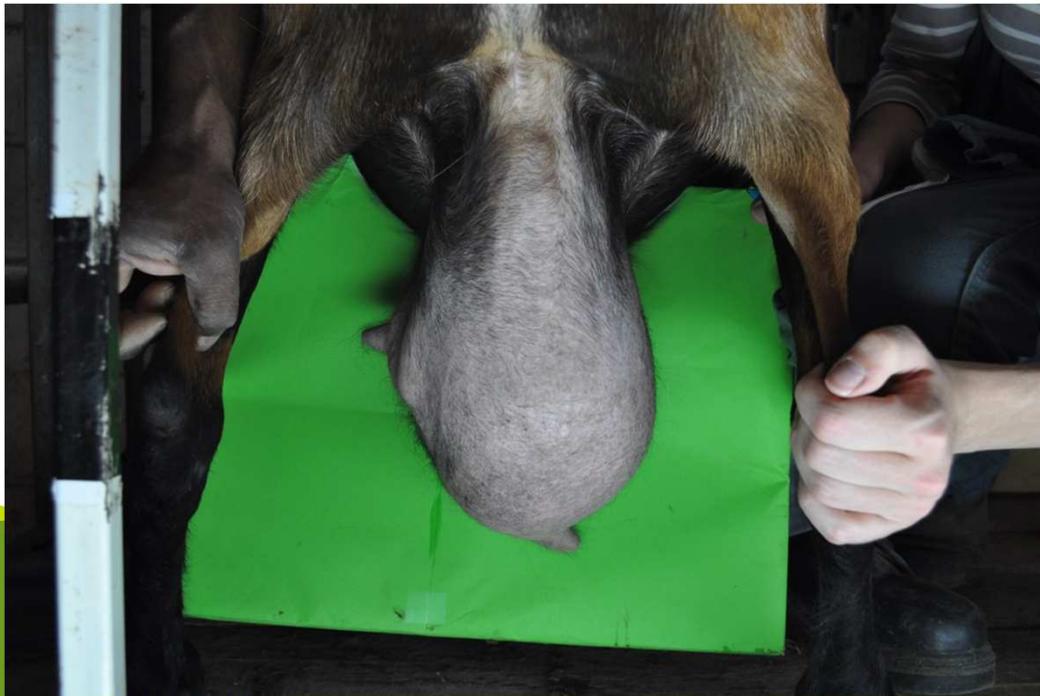
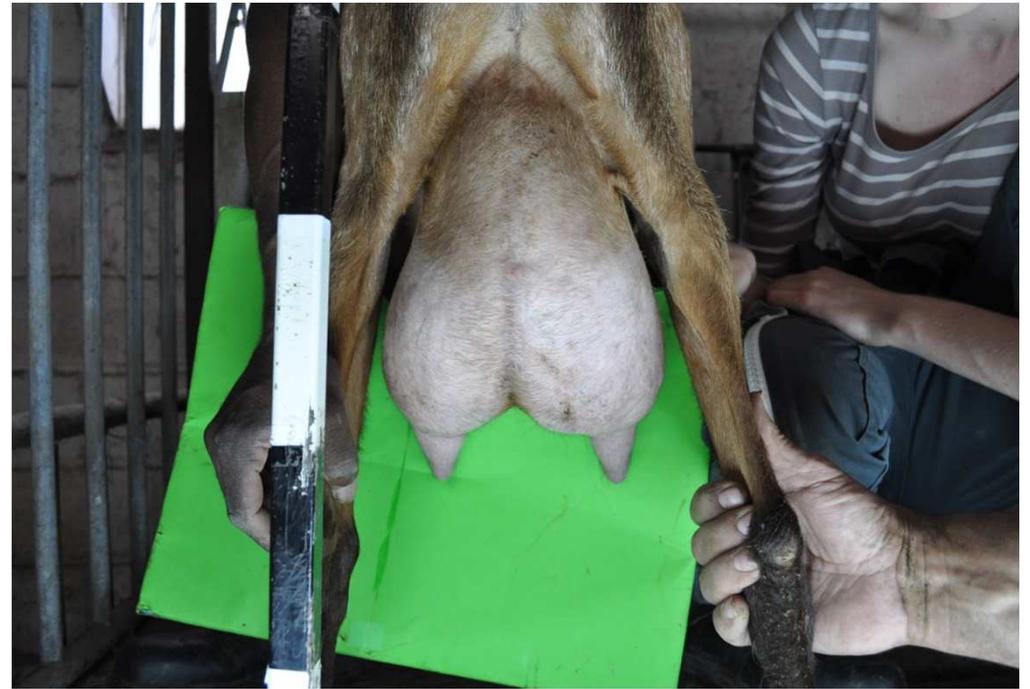
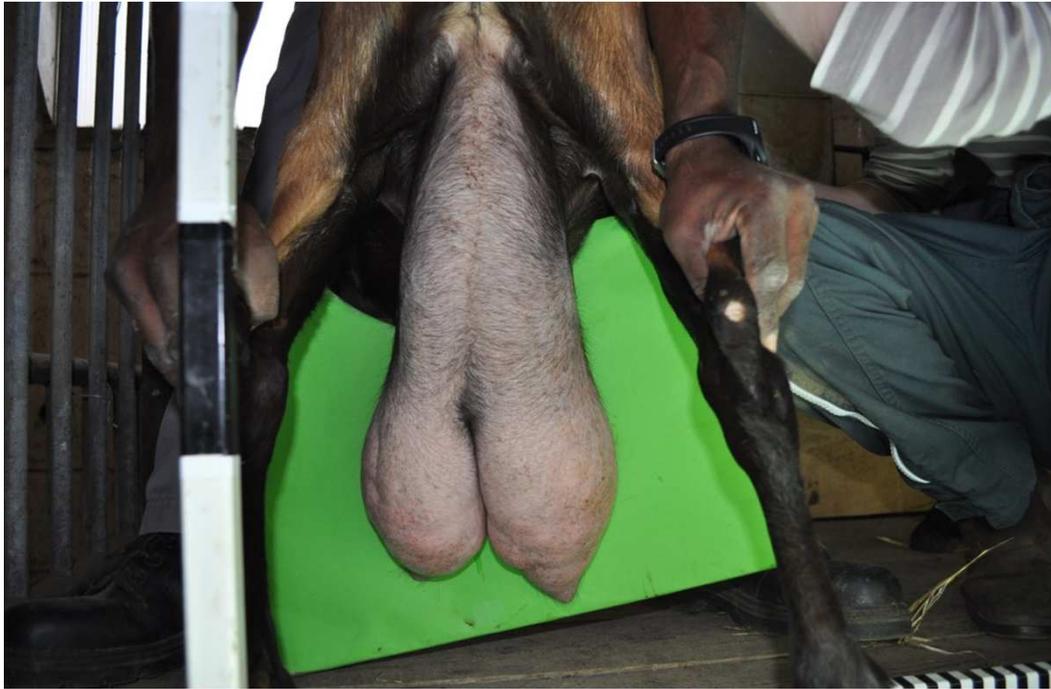


## Les difficultés:

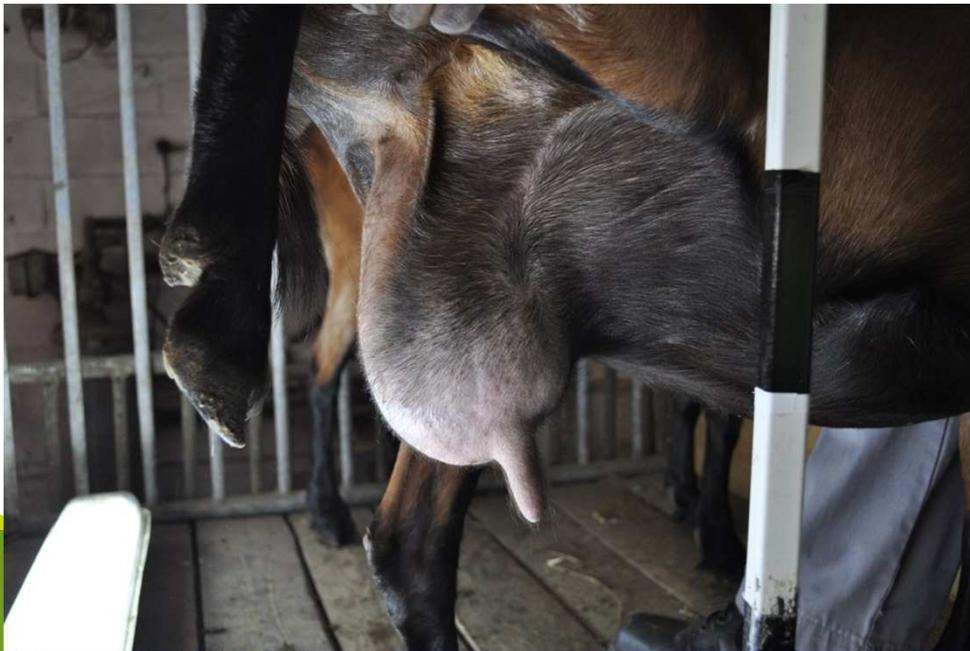
- ✓ Adapter les variables aux mesures caprines
- ✓ Déterminer les nombres de variables nécessaires / pointage classique
- ✓ Déterminer les fonds de couleurs les mieux appropriés, adapter la luminosité
- ✓ Tenir compte de la pilosité différente
- ✓ Tenir compte des couleurs de peau différentes
- ✓ Tenir compte des morphologies très variées
- ✓ Valider les macros par des tests



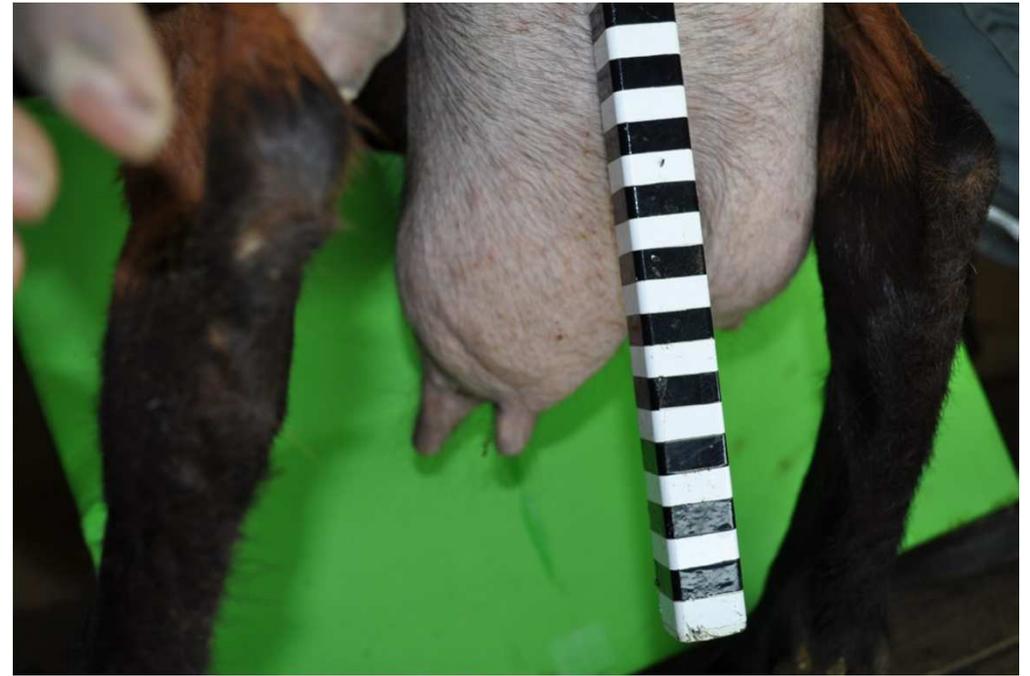
Quelques exemples: Arrière



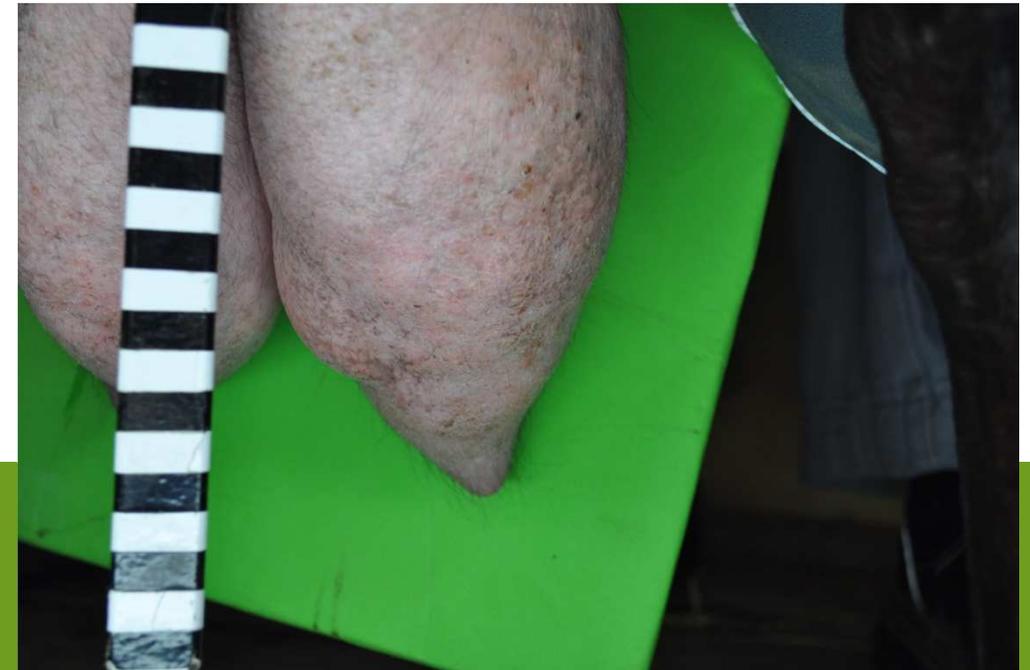
## Quelques exemples: Côté



## Quelques exemples: Trayons



Si la variabilité est une richesse alors tout espoir est permis!

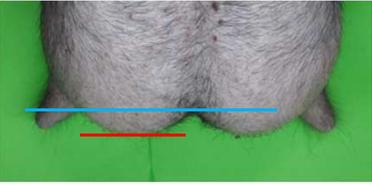
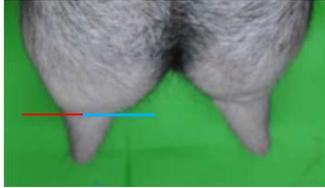
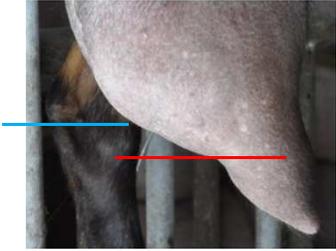
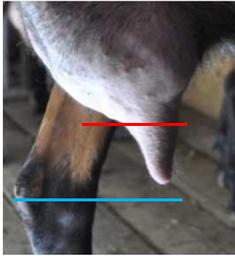
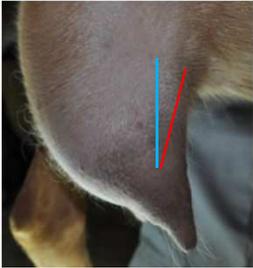
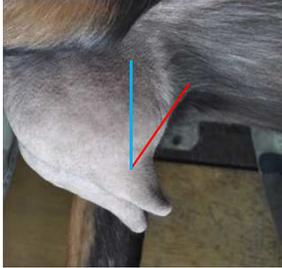


## Matériels et méthodes

- ✓ Fusion photos/pointages chez les CCS
  - Les 4 clichés (36 variables) exploitables pour 81 chèvres
  - 7 <sup>(/14)</sup> variables pointage disponibles pour ces mêmes animaux

43 variables pour  
la morpho de la  
mamelle!



Mesures	CCS+		CCS-	
Largeur au milieu du trayon(photo)		N=42 Mean=2,01 Std=0,71 CV=35,47		N=39 Mean=1,58 Std=0,66 CV=10,11
Hauteur de la citerne(photo)		N=42 Mean=0,51 Std=0,39 CV=75,72		N=39 Mean=0,31 Std=0,25 CV=81,75
Position plancher jarret (pointage)		N=42 Mean=6,48 Std=0,83 CV=12,87		N=39 Mean=6,87 Std=0,70 CV=10,11
Angle de l'attache avant (photo)		N=42 Mean=79,17 Std=59,4 CV=75,03		N=39 Mean=95,88 Std=57,47 CV=59,93

**Mamelle type avec ≠ significative (entre lignées)**

# Conclusions du projet Mamovicap

- **CCS = bon prédicteur** des infections intramammaires caprines  
Mamelle sans germes= CCS faibles !
- **Sélection CCS= moins de lait positifs en bactériologie**
- La **bactériologie par PCR quantitative** est plus robuste et plus sensible que la bactériologie conventionnelle (mais ca reste cher !)
- La caractérisation de la **morphologie de la mamelle par traitement d'image** est plus discriminante que le pointage



Merci de votre attention

*Merci à l'équipe caprine de Bourges*

## Lien avec l'Index Morphologique Caprin (IMC)

### Corrélations génétique ( $r_g$ , $\pm$ ET) avec le SCS

Caractères	$r_g$ avec SCS (Alpine)
Position plancher-jarret	-0,24 $\pm$ 0,032
Longueur trayon	0,29 $\pm$ 0,029
Largeur trayon	0,34 $\pm$ 0,030
Forme trayon	-0,27 $\pm$ 0,034

Source: Rupp;JDS 94-2010;

### Index Morphologique Caprin:

IMC = Avant-pis + Profil + plancher + largeur attache arrière + orientation des trayons

Effet lignée 'CCS' significatif