

## **Effet de la sélection pour l'amélioration de la résistance aux mammites basée sur les comptages de cellules somatiques : premiers résultats d'une sélection divergente de brebis laitières**

R. RUPP (1), G. FOUCRAS (2), S. DION (1), M.C. HYGONENQ (2), M.R. AUREL (1), E. FOULON (2), D. BERGONIER (2)  
(1) INRA, Station d'Amélioration Génétique des Animaux - 31326 Castanet-Tolosan - France  
(2) UMR INRA/ENVT1225, Interaction Hôte - Agent Pathogène, BP 87614- 31076 Toulouse - France

**RESUME** - Ce papier présente les premiers résultats d'un projet qui vise à étudier les conséquences de la sélection basée sur les comptages de cellules somatiques (CCS) pour l'amélioration de la résistance aux mammites chez les ruminants laitiers. Cette étude s'appuie sur la production de lignées divergentes de brebis (espèce modèle) sur la base des index CCS de leurs parents. Deux groupes de 7 béliers d'insémination artificielle d'index CCS extrêmes (estimé avec précision dans la population) ont permis la production de deux groupes de brebis ( $n \sim 2 \times 40$ ) au domaine expérimental INRA de La Fage. La production laitière et les numérations cellulaires de ces brebis ont été mesurées au cours de leur première lactation. Leur statut sanitaire a été évalué au travers de l'analyse bactériologique du lait, de l'enregistrement des événements sanitaires et de l'examen clinique des mamelles. Des mammites cliniques ( $n=5$ ) n'ont été observées que dans la lignée CCS+. La présence d'abcès mammaires a été nettement plus fréquente dans la lignée CCS+ (28 cas) que dans la ligne CCS- (1 cas). Le risque d'infection instantanée a été 3 fois supérieur dans la lignée CCS+ que dans la lignée CCS-. Cette différence a été particulièrement marquée à la mise bas. Les infections chez les brebis de la lignée CCS+ ont été plus durables, alors que les brebis de la lignée CCS- ont montré une meilleure capacité à éliminer les infections. En outre, les numérations cellulaires ont été plus faibles dans les échantillons infectés de ces dernières. Ces premiers résultats suggèrent une bonne efficacité d'une sélection basée sur les CCS pour l'amélioration de la résistance aux infections intramammaires d'étiologie variable. Ce projet fait l'objet d'investigations complémentaires.

## **Effects of SCC-based selection for mastitis resistance: first results from a divergent selection experiment in sheep**

R. RUPP (1), G. FOUCRAS (2), S. DION (1), M.C. HYGONENQ (2), M.R. AUREL (1), E. FOULON (2), D. BERGONIER (2)  
(1) INRA, Station d'Amélioration Génétique des Animaux - 31326 Castanet-Tolosan - France

**SUMMARY** - This paper presents the first results of a project that is aimed at studying the consequences of somatic cell count (SCC)-based selection on mastitis resistance in dairy ruminants. The study is based on a divergent selection of ewes, as a model species, based on breeding values for SCC. Using two groups of progeny-tested rams, with extreme breeding values for SCC, two groups of ewes ( $n \sim 2 \times 40$ ) were created at the INRA experimental unit of La Fage. During the first lactation, recordings of milk production, SCC, clinical mastitis occurrence (with pathogen identification), mammary examination and milk bacteriological analyses were performed. Clinical mastitis were only observed in the High SCC line ( $n=5$ ). Frequency of mammary abscesses was higher in the High SCC line (28 cases) than in the Low SCC line (1 case). Risk of infection was 3 times higher in the High than in the Low SCC line. Furthermore, ewes of the High SCC line showed more durable infections, whereas ewes of the Low SCC line showed better ability to recover from infections during lactation, and develop lower SCC in positive samples. The results of the first lactation in the High and Low SCC lines therefore gave strong evidence that SCC-based selection leads to a notable improvement of the resistance to mammary infections. The present study is still ongoing and should allow further investigations.

## INTRODUCTION

Les mammites représentent une pathologie majeure des ruminants laitiers de part leur fréquence et l'importance de leurs répercussions économiques. Parmi les stratégies de lutte, en alternative à la prophylaxie sanitaire et à la vaccination dont l'efficacité reste limitée, la sélection d'animaux résistants offre une perspective d'amélioration durable. Une telle sélection est appliquée depuis une dizaine d'années dans de nombreux pays (Rupp et Boichard, 2003) sur la base d'une diminution linéaire d'un critère indirect, héritable, disponible à grande échelle et moindre coût : les comptages de cellules somatique du lait (CCS). Néanmoins les CCS sont alors utilisés comme un outil de sélection de type 'boîte noire' : les gènes et mécanismes mobilisés sont inconnus, de même que les effets et l'efficacité à long terme d'une telle sélection.

L'objectif de notre projet est d'étudier les conséquences sur les différentes composantes de résistance de l'hôte aux infections intra mammaires d'une sélection utilisant les CCS comme critère. Il s'appuie sur la production de lignées divergentes de brebis (espèce modèle) Cet article présente les résultats du suivi de la première cohorte de brebis primipares.

## 1. MATERIEL ET METHODE

### 1.1. PRODUCTION DE LIGNEES DIVERGENTES

Le dispositif animal est basé sur une sélection divergente de brebis laitières de race Lacaune. L'espèce ovine a été retenue comme espèce modèle pour l'étude de la résistance aux mammites au vu de : 1/ la forte similitude de la pathologie dans les 3 espèces de ruminants laitiers (Bergonier *et al.*, 2003), 2/ la disponibilité d'une évaluation génétique nationale pour les CCS dans cette race laitière de brebis (Rupp *et al.*, 2002) et 3/ les facilités de mise en œuvre et de suivi d'un tel dispositif dans un domaine expérimental INRA (La Fage, Roquefort, Aveyron).

Deux groupes de béliers d'insémination artificielle (IA) (n=7), testés sur descendance et présentant des index CCS extrêmes ont été choisis parmi les mâles des deux unités de sélection : Confédération Générale de Roquefort et Ovitest, qui sont les partenaires professionnels de ce projet. Ces mâles ont été accouplés aux brebis du troupeau expérimental de La Fage pour produire deux groupes de brebis aux numérations cellulaires respectivement faibles (Lignée CCS-) et élevées (Lignée CCS+). Nous avons veillé, par ailleurs, à ce que les béliers choisis présentent un index suffisamment précis (CD moyen =0,80) et soient homogènes en terme de valeur génétique pour la production laitière. Une intensité de sélection moindre a été appliquée aux mères, qui ont été réparties dans 2 groupes de même effectif selon leur index CCS. Les IA, réalisées en juillet 2003, ont abouti à la naissance d'une centaine d'agnelles en novembre 2003. Celles ci ont été inséminées en juillet 2004 de sorte que 49 brebis de la lignée CCS+ et 42 brebis de la lignée CCS- ont mis bas et démarré une lactation début 2005.

### 1.2. MESURES PHENOTYPIQUES

Le suivi des brebis au cours de leur première lactation a consisté à mesurer la production laitière et les numérations cellulaires, à enregistrer les cas cliniques de mammites, à réaliser des examens cliniques des mamelles (ou palpations mammaires) et des analyses bactériologiques du lait.

Les caractères laitiers (production et taux) et les CCS ont été mesurés toutes les 3 semaines, soit 8 fois entre février et juin. Les CCS ont été mesurés à partir d'échantillons de lait

de chacune des 2 hémi mamelles, ainsi qu'à partir du lait de mélange des 2 hémi mamelles.

Les palpations mammaires ont été réalisées à 5 reprises au cours de la lactation par les techniciens du domaine de La Fage, permettant ainsi d'observer les signes évocateurs d'infections chroniques : présence d'abcès mammaires, d'indurations de la mamelle et kystes lactés (dont la signification infectieuse est encore mal connue) ainsi que les boutons et les croûtes (infections cutanées).

Pour l'analyse bactériologique, des échantillons de lait de chaque hémi mamelle ont été prélevés de façon aseptique à la mise bas et simultanément aux mesures de CCS. Ces analyses, incluant l'identification des micro-organismes, ont été réalisées à l'IHAP (Ecole Vétérinaire de Toulouse) par les techniques conventionnelles (système API). Au total 1180 analyses bactériologiques ont été réalisées. De façon à traiter ces informations, les caractères suivants ont été définis :

- Une **bactériologie positive** correspond à un échantillon de lait d'une hémi mamelle permettant l'identification directe ou après enrichissement d'une espèce bactérienne en culture pure (ou de 2 espèces bactériennes maximum).

- Une **bactériologie négative** correspond à un échantillon de lait d'hémi mamelle sans isolement.

- Une **nouvelle infection** est définie comme un résultat positif, sachant que le prélèvement précédent de la même hémi mamelle était négatif. (NB : les mamelles étaient supposées stériles avant la mise bas).

- Une **persistance** est définie comme un résultat positif, sachant que le prélèvement précédent de la même hémi mamelle était positif, avec le même microorganisme identifié.

- Une **guérison** est définie comme une bactériologie négative sachant que le prélèvement précédent de la même hémi mamelle était positif.

- Une hémi mamelle avec au moins 2 ou 3 bactériologies positives avec le même microorganisme est **durablement infectée**.

### 1.3. ANALYSE DES DONNEES

L'analyse des CCS a porté sur les valeurs obtenues après transformation logarithmique en score (SCS), cette procédure étant classiquement appliquée pour normaliser la distribution des données (Mrode et Swanson, 1998). La valeur 3 du score correspond à un CCS de 100 000 c/ml et une augmentation de 1 du SCS correspond à un doublement du CCS. Les données répétées de SCS ont fait l'objet d'une analyse de variance à l'aide d'un modèle mixte (proc MIXED, SAS®) incluant les effets fixes de la lignée, le moment de la mesure, la semaine de mise bas et les effets aléatoires de l'animal et de l'erreur.

De même, l'effet de la lignée sur les infections intra mammaires a été évalué par une analyse de variance. Pour ce faire, 3 différentes variables binaires (0/1) relatives aux analyses bactériologiques (infection instantanées, nouvelles infections, guérison) ont été analysées à l'aide de modèles linéaires généralisés mixtes (macro GLIMMIX de SAS®). La régression logistique a été utilisée de façon à estimer des risques relatifs (ou OR pour *odds ratio*) d'infection entre différentes modalités d'un facteur explicatif (ex. lignée CCS+ vs. lignée CCS-). En plus de l'effet de la lignée, les effets fixés du moment de prélèvement et de semaine de mise bas, ainsi que les effets aléatoires de la brebis et de l'erreur étaient également inclus aux modèles.

## 2.1. PRODUCTION LAITIÈRE ET NUMÉRATION CELLULAIRE

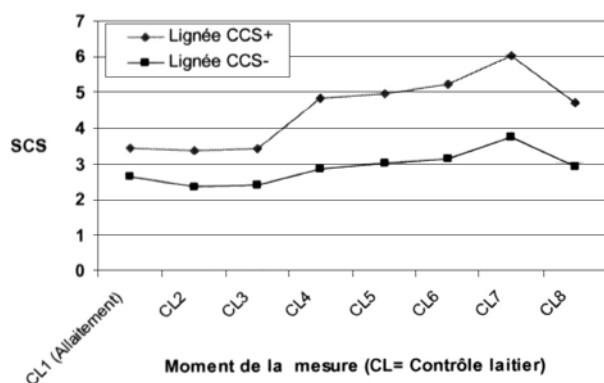
Les caractéristiques de production laitière ont été très similaires chez les brebis des lignées CCS+ et CCS- (tableau 1), alors que les deux lignées montraient une grande différence en terme de CCS (tableau 1, figure 1).

**Tableau 1** : caractéristiques moyennes des brebis des lignées divergentes au cours de leur première lactation.

|                            | Lignée CCS+  | Lignée CCS-  |
|----------------------------|--------------|--------------|
| Effectif                   | 49           | 42           |
| Lait <sup>1</sup> (litres) | 0,88         | 0,89         |
| Taux butyreux (g/l)        | 64,5         | 63,1         |
| Taux protéique (g/l)       | 53,5         | 50,2         |
| CCS                        | 858 000 c/ml | 405 000 c/ml |
| SCS (std)                  | 4,48 (2,15)  | 2,89 (1,70)  |

<sup>1</sup> moyenne de la production du matin

**Figure 1** : évolution des SCS au cours de la première lactation (CL= Contrôle Laitier).



## 2.1. RESISTANCE AUX INFECTIONS NATURELLES

### 2.1.1. Mammites cliniques

Des mammites cliniques aiguës (n=5), dont une mammite gangreneuse sévère, n'ont été observées qu'au sein de la lignée CCS+. Dans les cas où la détermination du micro-organisme a été possible (2/5), les pathogènes responsables étaient des *micrococaccae*.

Parmi les principales anomalies observées lors des palpations mammaires (tableau 2), les kystes lactés, mais surtout les abcès mammaires, étaient plus fréquents chez les brebis de la lignée CCS+ que chez les brebis de la lignée CCS-. Par ailleurs, un lien étroit entre la présence d'abcès mammaire et le statut infectieux de la mamelle a pu être établi, puisque 81 % des abcès concernaient des mamelles infectées (au vu des résultats d'analyse bactériologique concomitants de la palpation mammaire). Cette association n'est pas aussi évidente pour les kystes lactés.

**Tableau 2** : fréquence des anomalies observées lors des palpations mammaires des brebis des lignées CCS+ et CCS-.

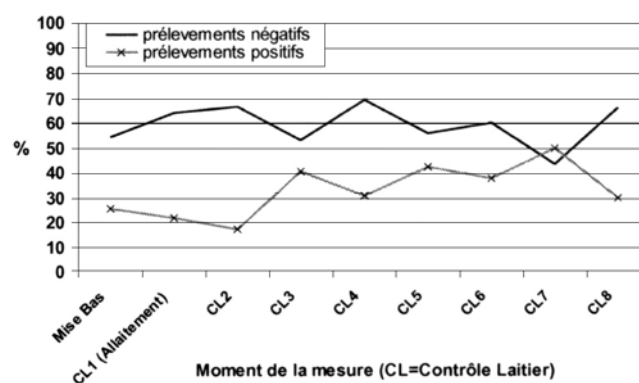
|                    | Moyenne | Lignée CCS+<br>(37 brebis) | Lignée CCS-<br>(41 brebis) |
|--------------------|---------|----------------------------|----------------------------|
| Nb. observations   | 312     | 164                        | 148                        |
| Kystes lactés      | 12,0 %  | 19,5 %                     | 5,4 %                      |
| Abcès              | 9,3 %   | 17,1 %<br>(13 brebis)      | 0,1 %<br>(1 brebis)        |
| Boutons et croûtes | 5,7 %   | -                          | -                          |
| Induration         | 3,2 %   | -                          | -                          |

### 2.1.2. Infections mammaires

L'analyse bactériologique systématique des laits a permis d'établir le statut infectieux subclinique de chaque hémimamelle au cours de la première lactation. En moyenne 33 % des échantillons de lait étaient positifs, 59 % négatifs alors que pour 8 % des échantillons une contamination au moment du prélèvement était soupçonnée. Les pathogènes les plus fréquemment isolés (37 % des prélèvements positifs) étaient des micrococques (*M. lylae* et *M. luteus*) et *S. auricularis*. Ont également fréquemment été identifiés les staphylocoques suivants : *S. simulans* (n=27), *S. xylosus* (n=19), *S. lentus* (n=19), *S. chromogenes* (n=17) et *S. warneri*=14 ainsi que des staphylocoques non identifiés (*S. sp.* NI). La répartition des micro-organismes identifiés était comparable à celle habituellement observée dans ce troupeau expérimental et plus généralement chez les ovins laitiers (Bergonier *et al.*, 2003).

La fréquence des infections instantanées était plus faible à la mise bas et en phase d'allaitement traite (20-30 %) qu'au cours de la période de traite exclusive (30-50 %) (figure 2).

**Figure 2** : évolution de la fréquence des infections au cours de la première lactation (CL= Contrôle Laitier).



En prenant en compte l'ensemble des résultats des hémimamelles au cours de ce suivi, 8 % seulement des hémimamelles pouvaient être considérées comme saines tout au long de la première lactation, 28 % étaient infectées durablement et la majorité (64 %) ont été infectées brièvement.

Les résultats des analyses de variance ont montré que :

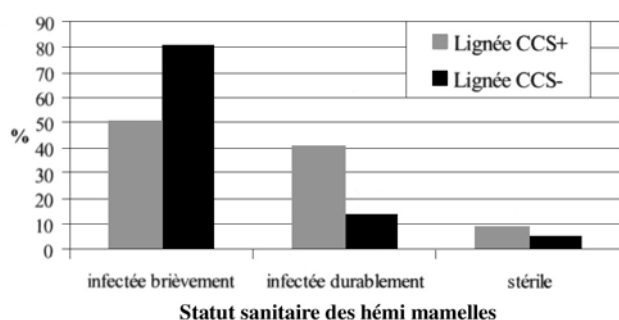
- Le taux d'infections instantanées moyen est 3 fois supérieur (OR=3) dans la lignée CCS+ que dans la lignée CCS-, pour des taux d'infections prédits de 37 % et 16 %, respectivement.

- Le taux de nouvelles infections est significativement plus élevé dans la lignée CCS+ que dans la lignée CCS- au moment de la mise bas (OR=4,5). De la période d'allaitement à la fin de la phase de traite exclusive le risque de nouvelle infection n'est pas différent entre les deux lignées.

- Le taux de guérisons spontanées est significativement supérieur dans la lignée CCS- par rapport à la lignée CCS+ (OR=4,6) sur l'ensemble de la première lactation, même s'il est peu différent entre lignées en période d'allaitement.

Ces résultats s'illustrent également par une persistance plus importante des infections dans la lignée CCS+ que dans la lignée CCS- (figure3).

**Figure 3** : répartition du statut sanitaire des héli mamelles des brebis des lignées divergentes CCS+ et CCS-



Enfin, nous avons observé que l'effet de l'infection sur les numérations cellulaires est plus marqué chez les brebis CCS+ que chez les brebis CCS- et en particulier durant la période d'allaitement. Pour des isolements, à micro-organisme identique et dénombrement comparable, les numérations cellulaires associées sont généralement plus élevées chez les brebis de la lignée CCS+ que chez les brebis de la lignée CCS-.

### CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En utilisant des géniteurs d'index CCS extrêmes, nous avons créé deux lignées de brebis dont la divergence en terme de numération cellulaire (3 écart-types génétiques) est équivalente à plus d'une dizaine d'année de sélection suivant l'objectif de sélection ovins laitier actuellement proposé (Barillet *et al.*, 2006)..

Le suivi des brebis primipares du dispositif a montré que la sélection basée sur les CCS, telle qu'elle est pratiquée actuellement, doit se traduire par une amélioration de résistance aux infections mammaires.

En premier lieu, les brebis de la lignée CCS+ sont plus sensibles aux mammites cliniques, aussi bien aiguës que chroniques, que les brebis de la lignée CCS-.

Par ailleurs, chez les brebis de la lignée CCS+, les infections intra mammaires subcliniques sont plus fréquentes que chez les brebis de la lignée CCS-. Cette différence s'explique surtout par : 1/ une sensibilité accrue aux infections mammaires des brebis de la lignée CCS+ à la mise bas, 2/ une persistance plus élevée des infections chez les brebis CCS+ et, 3/ une meilleure aptitude des brebis CCS- à se débarrasser d'une infection. Le fait que, par ailleurs, les brebis CCS- ont des numérations cellulaires plus faibles que les brebis CCS+, pour une infection *a priori* identique, mérite de plus amples investigations.

Le suivi d'une nouvelle cohorte de brebis de la sélection divergente (duplication du dispositif en 2005) et l'enregistrement de mesures complémentaires sont en cours pour confirmer ces premiers résultats, dont notamment la meilleure aptitude des brebis CCS- à se débarrasser d'une infection. Ce dispositif expérimental original permettra de poursuivre les l'étude des mécanismes de défense de l'hôte qui sont associés à une résistance accrue de la glande mammaire aux infections.

*Les auteurs remercient l'ensemble du personnel de La Fage pour leur contribution à l'élevage et au suivi des animaux. Ce travail a été financé dans le cadre d'un appel d'offre régional Midi Pyrenees (AO2004-2005) et des appels d'offre nationaux GENANIMAL 2003 et ACI Microbiologie 2003.*

**Barillet F., Astruc J.M., Lagriffoul G. 2006.** *Proc. 35<sup>th</sup> Session of ICAR, Kuopio, Finland*

**Bergonier D., Crémoux R., Rupp R., Lagriffoul G. Berthelot X. 2003.** *Vet. Res.* 34 : 689-716

**Mrode R.A., Swanson G.J.T., Winters M.S., 1998.** *Anim. Sci.* 66 : 569-576.

**Rupp R., Boichard D., Barbat A., Astruc J.M., Lagriffoul G. Barillet F., 2002.** *Proc. 7<sup>th</sup> WCGALP, N° 09-28*

**Rupp R. Boichard D. 2003.** *Vet. Res.*, 34 : 671-688