

Réponse à une sélection divergente sur la concentration de cellules somatiques du lait chez la chèvre Alpine

CAILLAT H. (1), BOUVIER F. (2), RAINARD P. (3), MARTIN P. (4), CLEMENT V. (5), LARROQUE H. (1), GUERY E. (6), RUPP R. (1)

(1) INRA, UR631 Station d'Amélioration Génétique des animaux, F-31326 CASTANET-TOLOSAN

(2) INRA UE332, Domaine de Bourges-La Sapinière, F-18390 OSMOY

(3) INRA, UR1282 Infectiologie Animale et Santé Publique, F-37380 NOUZILLY

(4) CAPGENES, 1235 route de Chauvigny, F-86550 MIGNALOUX-BEAUVOIR

(5) Institut de l'Élevage, INRA SAGA, F-31326 CASTANET-TOLOSAN

(6) Laboratoire Départemental d'Analyses du Cher, 216 rue Louis Mallet, F-18000 BOURGES

RESUME - L'héritabilité de la concentration de cellules somatiques (CCS) a été estimée aux environs de 0,20 en caprins ce qui permet d'envisager d'améliorer la résistance aux mammites par une sélection sur ce caractère dans cette espèce. Pour évaluer les effets d'une telle sélection nous avons procréé et réalisé le suivi de deux lignées divergentes. Pour cela, après élaboration d'une évaluation génétique des CCS en race Alpine, nous avons sélectionné 23 boucs du schéma de sélection extrêmes pour ce caractère. A index de production comparables, les index CCS moyens des pères utilisés différaient de près de 3 écart-types génétiques. 2 groupes de chèvres fortement divergentes (61 CCS+, 44 CCS-) ont fait l'objet d'analyses bactériologiques de lait et de CCS par hémi-mamelle à la mise-bas et à 8 reprises à 1 mois d'intervalle au cours de la 1^{ère} lactation.

La concentration cellulaire était en moyenne, de 1 384 000 cellules/mL et de 546 000 cellules/mL pour les chèvres de la lignée CCS+ et CCS-, respectivement, soit une différence significative de 1,2 point de score de cellules somatiques (SCS), après transformation logarithmique. En moyenne, 38% des prélèvements de lait étaient bactériologiquement positifs. Les types bactériens les plus fréquents étaient des staphylocoques à coagulase négative (58,4%), et principalement *S. xylosus* (19,7%).

La fréquence des échantillons positifs était significativement plus élevée dans la lignée CCS+ (46%±3), que dans la lignée CCS- (28%±3). Globalement, la concentration cellulaire était très bien corrélée au statut bactériologique de l'hémi mamelle. En effet, le SCS moyen a été significativement plus élevé dans les échantillons positifs que dans les échantillons négatifs (3,7±0,1 vs 4,3±0,1). Certains types bactériens ont eu un impact plus fort que d'autres sur le SCS : *S.aureus* (5,5±0,5), et *S.caprae* (5,2±0,3) versus *Bacillus* (4,0±0,3) et prélèvements négatifs (3,6±0,1). La quantité de germes dans l'échantillon a eu également un impact significatif sur le SCS.

Au sein de la lignée CCS+, les prélèvements positifs ont eu des SCS significativement supérieurs aux prélèvements négatifs (+0,9 point de SCS) alors que la différence a été moindre dans la lignée CCS-. Cette observation semble être due principalement au fait qu'il y ait en général une quantité plus importante de germes dans les échantillons positifs de la lignée CCS+ que dans ceux de la lignée CCS-.

Ces résultats donnent à penser qu'une sélection basée sur le CCS chez les caprins pour diminuer la fréquence des infections intra-mammaires et la quantité de bactéries présentes dans le lait en cas d'infection serait efficace.

Response to a divergent selection based on milk somatic cell counts in Alpine dairy goats

CAILLAT H. (1), BOUVIER F. (2), RAINARD P. (3), MARTIN P. (4), CLEMENT V. (5), LARROQUE H. (1), GUERY E. (6), RUPP R. (1)

(1) INRA, UR631 Station d'Amélioration Génétique des animaux, F-31326 CASTANET-TOLOSAN

SUMMARY - The heritability of goat milk somatic cell count (SCC) trait has been estimated to be around 0.20. Accordingly, it is possible to consider improving the mastitis resistance in goats by selection on SCC. The aim of our study was to evaluate the consequences of SCC-based selection on intra-mammary infections in the goat. Using 23 progeny-tested AI bucks selected for extreme breeding values for somatic cell scores (SCS, logarithmic transformation of SCC), we created two groups of 61 High SCS and 44 Low SCS goats which were raised at the INRA experimental facility of Bourges. Milk bacteriological analyses and SCC of half-udders were performed at the kidding date and up to 8 monthly time points in first lactation.

The mean SCC was 1 384 000 cells/mL and 546 000 cells/mL for the High and Low SCS goats, respectively, with a significant difference of 1.2 point SCS. Regarding milk bacteriology results, 38% of samples were positive on average. The main bacterial types found were Coagulase Negative Staphylococci (58.4%) and especially *S. xylosus* (19.7%). The frequency of positive samples was significantly higher in the High SCS (46%±3) than in the Low SCS line (28%±3).

Generally speaking, the cell count and the bacteriological status of the half udder were very well correlated. Indeed, the mean SCS was significantly higher for the positive than negative milk samples (3.7±0.1 vs 4.3±0.1). Some bacterial types had a stronger impact on the SCS than others: *S.aureus* (5.5±0.5) and *S.caprae* (5.2±0.3) versus *Bacillus* (4.0±0.3) and negative samples (3.6±0.1). Within the High SCS line, the SCS positive samples were significantly higher than negative samples (+0.9 point of SCS) while this difference was smaller in the Low SCS line. This observation can be explained by a higher quantity of pathogens in the positive samples of the High line than when compared to the Low line.

These results suggest that the SCS-based selection in goats will decrease the prevalence of intra-mammary infections and the amount of bacteria within infected milk samples.

INTRODUCTION

Dans les différentes espèces laitières, les infections intra mammaires (IIM), à l'origine des mammites, sont connues pour avoir de multiples effets sur la quantité, la qualité et l'aptitude à la transformation du lait produit (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2007 ; Leitner *et al.*, 2008 ; Koop *et al.* 2010, Le Maréchal *et al.*, 2011). Ces effets peuvent occasionner des pertes économiques pouvant aller jusqu'à 4 900€ pour un troupeau de 100 vaches laitières, lors d'infections par des pathogènes de type *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* et *Escherichia coli* (Halasa *et al.*, 2009). Par ailleurs, dans un contexte où le lait de chèvre est fortement valorisé sous forme de fromages au lait cru, et où un intérêt croissant est porté à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait (lorsque l'animal a fait l'objet d'un traitement), la maîtrise des mammites représente un enjeu majeur de la filière caprine en termes d'image et de sécurité alimentaire

Le concentration de cellules somatiques du lait (CCS) témoigne de l'état inflammatoire de la mamelle et correspond principalement au dénombrement de globules blancs qui, en cas d'IIM, augmente considérablement.

Ces dernières années, une augmentation du niveau cellulaire moyen a été constatée dans les élevages caprins français (De Crémoux, 2011). Les pénalités appliquées pour les laits fortement chargés en cellules entraînent des pertes économiques encore plus importantes pour les élevages. Mais surtout, cet état de fait traduit probablement une évolution défavorable du statut sanitaire des chèvres à l'échelle de la population.

Grâce à ce critère indirect mais héritable (0,20-0,24 – Rupp *et al.*, 2011) et aux données collectées en routine et à moindre coût lors des contrôles laitiers, nous avons produit des lignées divergentes, au sein de l'Unité Expérimentale INRA de Bourges (UE-332 - Domaine de Galle – 18520 AVORD).

L'objectif de notre étude est donc de préparer et de raisonner une sélection basée sur le CCS en évaluant ses conséquences concrètes sur les IMI et la qualité hygiénique des laits. Dans cet article, nous présenterons tout d'abord la démarche utilisée pour procréer les lignées divergentes et, dans un second temps, les résultats obtenus grâce au suivi de deux cohortes durant leur première lactation.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. PROCREATION DES LIGNEES DIVERGENTES

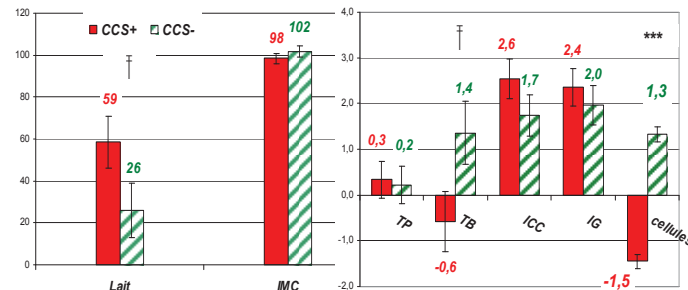
La procréation des chèvres constituant ces lignées divergentes est basée sur une indexation expérimentale des CCS utilisant l'ensemble des données nationales disponibles depuis 1999 et les paramètres génétiques décrits par Rupp *et al.*, 2011. Cette étape a permis d'estimer les valeurs génétiques des boucs d'insémination animale (IA) de race Alpine de l'Organisme et Entreprise de Sélection caprin (CAPGENES). Deux groupes de boucs avec des index CCS extrêmes et présentant un index suffisamment précis ($CD > 0,80$) ont ainsi été retenus. Ainsi, 12 boucs avec des index négatifs (défavorables-Lignée CCS+) et 11 boucs avec des index positifs (Lignée CCS-) ont été accouplés sur 2 années (2008 et 2009) aux chèvres disponibles sur l'Unité Expérimentale INRA de Bourges.

Cet ensemble de pères présentaient des index de production (Lait, Taux Protéique), de morphologie (IMC) et de synthèse (ICC, IG) comparables (figure 1). Les fondateurs retenus présentaient toutefois une légère différence ($P = 0,054$) sur la moyenne d'index du taux butyreux (TB), reflétant l'opposition génétique entre ce caractère et le CCS ($rg = -0,18$ en race Alpine – Rupp *et al.*, 2011). La moyenne des index cellulaires

présentaient une différence significative ($P < 0,0001$) de près de 3 écart-types génétiques (figure 1).

Ces accouplements ont permis de procréer et de réaliser le suivi de 61 chèvres de la lignée CCS+ et 44 chèvres de la lignée CCS- durant leur première lactation en 2010 et 2011.

Figure 1 Index des boucs utilisés pour la procréation des lignées divergentes (***) : $P < 0,0001$, † : $P < 0,10$



1.2. MESURES PHENOTYPIQUES

Le suivi des chèvres a consisté à mesurer la production laitière et les concentrations cellulaires, à enregistrer les cas cliniques de mammite, à suivre la croissance au travers de pesées et à réaliser des analyses bactériologiques du lait.

Les caractères laitiers (production et taux) ont été mesurés tous les 28 jours dans le cadre du contrôle laitier officiel (protocole A), soit 9 fois entre février et octobre, en 2010 et 6 fois entre février et juillet, en 2011. Les CCS ont été mesurés à partir d'échantillons de lait du matin de chacune des 2 hémimamelles lors de ces mêmes points de contrôle, excepté au mois d'août.

Pour l'analyse bactériologique, des échantillons de lait de chaque hémimamelle ont été prélevés de manière aseptique à la mise-bas et simultanément aux mesures de CCS. Ces analyses ont été réalisées au Laboratoire Départemental d'Analyses du Cher et incluaient une identification des micro-organismes (galeries API), ainsi qu'une quantification du nombre de colonies présentes 48 heures après ensemencement de 20µL de lait sur milieu de culture (gélose au sang de mouton). Au total, 1620 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 hémimamelle permettant l'identification d'une, voire 2 espèces bactériennes.
- une bactériologie négative correspond à un échantillon de lait d'hémimamelle sans isolement 48 heures après étuve.

Les types bactériens représentant moins de 1% du nombre total de bactériologies positives (ou inférieurs à 0,5% du total des analyses) ont été regroupés dans la catégorie « autres ». Concernant la quantification, nous avons distingué 3 classes (au moins 10 colonies, de 10 à 100 et plus de 100 colonies). Pour tester l'effet du statut infectieux à la lactation sur d'autres caractères, et du fait qu'il reste 2 contrôles à réaliser pour la 2^e cohorte, le pourcentage de prélèvements (à l'hémimamelle) avec un résultat bactériologique positif a été définie pour chaque chèvre et celles-ci ont été réparties en 3 classes ($\leq 20\%$, 21-69%, $\geq 70\%$).

Pour le suivi de la croissance, des pesées à la lutte (août de l'année N-1 et de l'année N), à la mise-bas et au tarissement ont été réalisées.

L'identification des échantillons a été réalisée avec le logiciel GENOBARRE (plateforme GENOTOUL) et l'ensemble des résultats a été collecté et consigné via les bases de données expérimentales (SIDEX) et zootechniques (GEEDOC) (INRA-CATI IPBI).

1.3. ANALYSE DES DONNEES

Les caractères répétés de production des chèvres (quantité journalière de lait et taux au contrôle laitier officiel) ont été analysés à l'aide d'un modèle mixte (proc MIXED, SAS®) incluant les effets fixes de la lignée, du stade de lactation (10 classes), de la campagne (2 classes) et les effets aléatoires de l'animal et de l'erreur. Les interactions entre ces 3 effets fixes ont été testées. La répétition des mesures individuelles au cours de la lactation a été prise en compte dans une structure de matrice de variance-covariance résiduelle de type autorégressive de 1^{er} ordre (AR(1)).

L'analyse des CCS a porté sur les valeurs obtenues après transformation logarithmique (base2) en score (SCS), procédure classiquement appliquée pour normaliser la distribution des données (Mrode et Swanson, 1998). La valeur 3 du score correspond à un CCS de 100 000 cellules/mL et une augmentation de 1 point de SCS correspond au doublement du niveau cellulaire CCS. Les données répétées de SCS au cours de la première lactation pour chacune des 2 hémis-mamelles (SCShm) 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, du stade de lactation (9 classes), de la campagne (2010 et 2011), du résultat bactériologique (négatif vs positif) et les effets aléatoires de l'animal et de l'erreur. L'ensemble des interactions double et triple entre les effets fixes ont été testées.

Un second modèle a ensuite été utilisé afin de tester les effets fixes du type bactérien (12 classes) et de la quantité de bactéries (3 classes). La disponibilité de données de SCS mesurés aux différents points de contrôle sur chacune des 2 hémis-mamelles nous a amené à considérer ces répétitions dans la modélisation de la variance résiduelle, tel que décrit par Rupp *et al.*, 2009.

La p-value retenue pour le niveau de significativité des effets est $P < 0,0001$.

En première approche, la relation entre la lignée et le statut infectieux à la lactation, le type de bactéries identifiées ainsi que le résultat bactériologique de chaque hémis-mamelle a été analysé à l'aide d'un test du Chi-deux (proc FREQ, SAS®). Le seuil de significativité retenu pour ces analyses est 0,01.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. CARACTERES DE PRODUCTION ET CONCENTRATION CELLULAIRE

Tableau 1 Caractéristiques moyennes (et écart-types) des chèvres des lignées divergentes durant leur 1^{ère} lactation

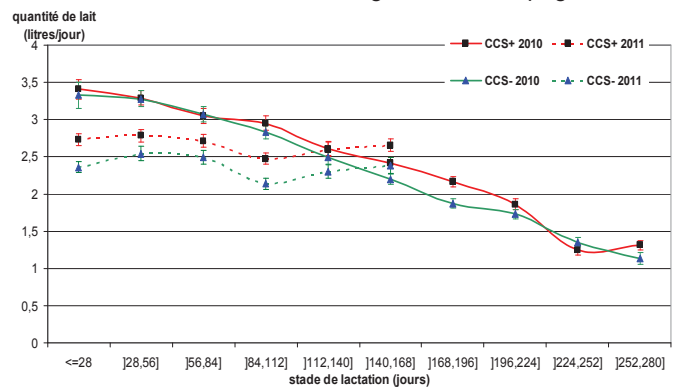
	N	Lignée CCS+	Lignée CCS-
Effectif	105	61	44
Lait (L/jour)	728	2,5 (0,1)	2,3 (0,0)
Taux butyreux (g/L)	722	38,4 (0,6)	39,2 (0,6)
Taux protéique (g/L)	722	30,5 (0,4)	31,1 (0,3)
CCS ($\times 10^3$ /mL) ¹	105	1 384 (1 617)	546 (582)
SCS ¹	105	5,6 (0,2)	4,5 (0,2)

¹ Moyenne arithmétique des valeurs moyennes annuelles de chaque chèvre.

La production laitière journalière des chèvres s'est avérée sensiblement plus élevée dans la lignée CCS+ que dans la lignée CCS- ($P < 0,05$) (+200mL/jour) en 2011 (figure 2). Cette différence s'explique par une légère supériorité de l'index lait des pères de la lignée CCS+ utilisés (figure 1). En revanche, en 2010, aucune différence n'a pu être mise en évidence (figure 2).

Au cours de la 1^{ère} lactation, aucune mammite clinique n'a été enregistrée. Concernant la croissance, l'analyse statistique n'a pas en évidence de différence entre lignées.

Figure 2 Evolution de la production laitière journalière au cours de la 1^{ère} lactation selon la lignée et la campagne

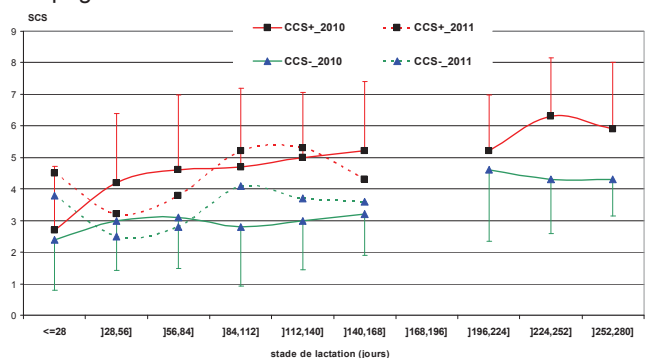


2.2. RESISTANCE AUX INFECTIONS NATURELLES

2.2.1. Relation entre la lignée et la concentration cellulaire

Les chèvres de la lignée CCS- ont eu en moyenne un SCS hémis-mamelle de $3,4 \pm 0,2$ et significativement inférieur de 1,2 de point à celui de la lignée CCS+. Ce niveau cellulaire a augmenté au cours de la lactation sans que, toutefois, celui de la lignée CCS- ne dépasse le niveau de la lignée CCS+. En fin de lactation, le niveau de la lignée CCS- était équivalent à celui de la lignée CCS+ en début de lactation (figure 3).

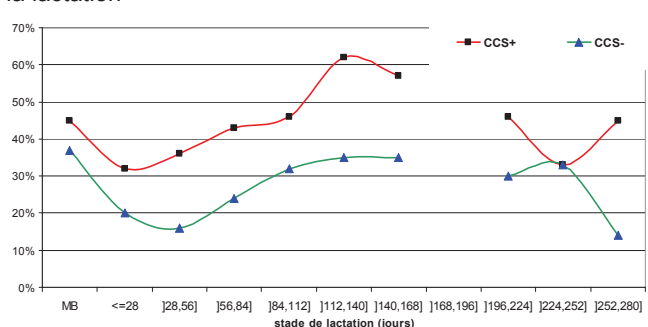
Figure 3 Evolution du SCS hémis-mamelle (moyennes et écart-types) au cours de la lactation selon la lignée et la campagne



2.2.2. Relation entre la lignée et le statut bactériologique

En moyenne, 38% des prélèvements de lait étaient bactériologiquement positifs. La proportion d'hémis-mamelles positive était significativement plus élevée dans la lignée CCS+ ($46\% \pm 3$ vs $28\% \pm 3$). Nous avons observé davantage de résultats positifs à la mise-bas quel que soit la lignée et, après une diminution dans les 2 mois suivants, cette proportion augmente au cours de la lactation (figure 4).

Figure 4 Evolution de la fréquence des analyses bactériologiques de lait positives selon la lignée au cours de la lactation



Concernant le statut infectieux à la lactation, seulement 5% des chèvres de la lignée CCS- ont eu plus de 70% d'hémis-mamelles positives alors que dans la lignée CCS+, cette catégorie représentait 21% (figure 5)

Figure 8 Nombre de bactéries et SCS héli-mamelle selon la lignée CCS (***) : $P<0,0001$, **: $P<0,001$ pour l'effectif entre lignées)

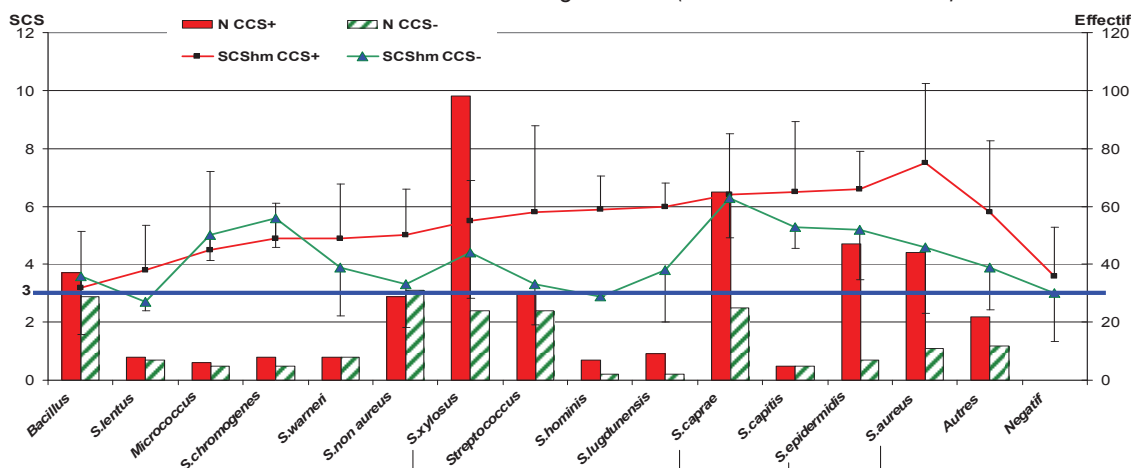
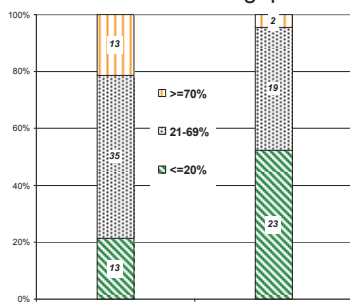
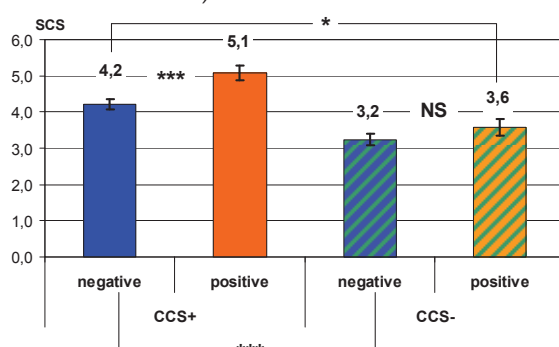


Figure 5 Répartition des chèvres des lignées CCS selon la proportion d'héli-mamelles bactériologiquement positives



Globalement, la concentration cellulaire était très bien corrélée au statut bactériologique de l'héli mamelle. En effet, le SCS moyen a été significativement plus élevé dans les échantillons positifs que dans les échantillons négatifs ($4,3\pm0,2$ vs $3,7\pm0,1$). Au sein de la lignée CCS+, les prélèvements positifs ont eu des SCS significativement supérieurs aux prélèvements négatifs alors que cette différence, bien qu'observée, n'a pas été significative dans la lignée CCS- ($p=0,07$). La différence de SCS entre le statut bactériologique des échantillons négatifs et positifs a été plus faible dans la lignée CCS- que dans la lignée CCS+ (0,4 vs 0,9 point de SCS, respectivement) (figure 6).

Figure 6 Niveau de SCS héli-mamelle selon la lignée et le statut bactériologique (***) : $P<0,0001$, *: $P<0,01$, NS : non significatif au seuil de 5%)

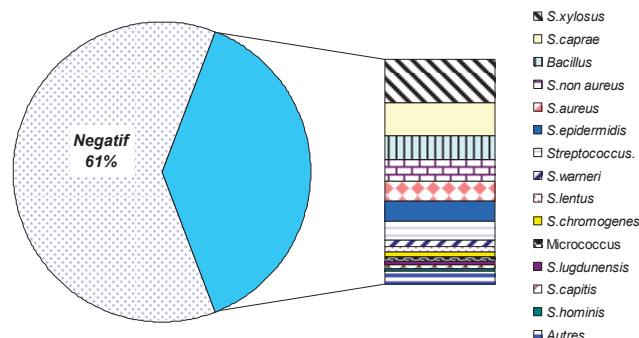


2.2.3. Types bactériens rencontrés et quantification

Les types bactériens les plus fréquents étaient des staphylocoques à coagulase négative (58,4%). Les 3 principaux types rencontrés ont été *S. xylosus* (19,7%), *S. caprae* (14,5%) et *Bacillus* (10,6%) (figure 7).

Un nombre significativement plus important de *S.epidermidis* (+85%), *S.aureus* (+75%), *S.xylosus* (+75%) et *S.caprae* (+61%) ont été identifiés dans la lignée CCS+ (figure 8). Nous avons observé que *S.aureus*, *S.epidermidis* et *S.caprae*

Figure 7 Principaux types bactériens identifiés



avaient un impact significatif sur le SCS ($5,5\pm0,5$, $5,3\pm0,3$ et $5,2\pm0,3$ respectivement). Egalement, une différence significative de +0,7 point de SCS a été constatée selon la quantité de bactéries excrétées pour les échantillons de lait contenant plus de 10 colonies.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'ensemble de ces résultats présage l'efficacité d'une sélection basée sur le CCS chez les caprins pour diminuer la fréquence des IIM et la quantité de bactéries présentes dans le lait en cas d'infection. Des travaux supplémentaires sont en cours pour évaluer la réponse d'une telle sélection sur l'aptitude à la transformation fromagère.

Nous remercions l'ensemble du personnel de l'élevage caprin de l'unité expérimentale de Bourges pour la collecte des échantillons, le personnel des laboratoires départementaux du Cher et d'Indre et Loire et du LILCO de Surgères pour les analyses des échantillons, ainsi que la région Centre pour le soutien financier de ce projet (CAPRICEL).

- De Crémoux, R. 2011. Réussir-La Chèvre, 304, 32
Halasa, T., Nielen, M., Huirne, R.B.M., Hogeveen, H. 2009. Livestock Science, 124, 295-305
Koop, G., Van Werven, T., Schuiling, J., Nielen, M. 2010. J. Dairy Sci., 93, 5809-5817
Leitner, G., Silanikove, N., Merin, U. 2008. Small Rumin. Res., 74, 221-225
Le Maréchal, C., Thiéry, R., Vautor, E., Le Loir, Y. 2011. Dairy Sci. & Technol., 91, 247-282
Mrode, R.A., Swanson, G.J.T., Winters, M.S. 1998. Anim. Sci., 66, 569-576
Raynal-Ljutovac, K., Pisiri, A., De Crémoux, R., Gonzalo, C. 2007. Small Rumin Res., 68, 126-144
Rupp, R., Bergonier, D., Dion, S., Hygonenq, M. C., Aurel, M.R., Robert-Granié, C., Foucras, G. 2009. J Dairy Sci., 92(3), 1203-1219
Rupp, R., Clément, V., Piacere, A., Robert-Granié, C., Manfredi, E. 2011. J Dairy Sci., 94, 3629-3634.