

Associations et interactions des pathogènes du lait et leurs impacts sur le risque de mammites chez la vache laitière

Hélène Lirot¹, Patrick Gasqui¹, Laurent Crespin², Xavier Bailly¹ et Anaïs Bompard¹

INRAE – VetAgro Sup, Unité Mixte de Recherches d'Epidémiologie des maladies animales et zoonotique (EPIA).
¹ Centre de recherche de Clermont Auvergne-Rhône-Alpes, France ; ² Marcy l'Etoile, France



helene.lirot@inrae.fr

CONTEXTE

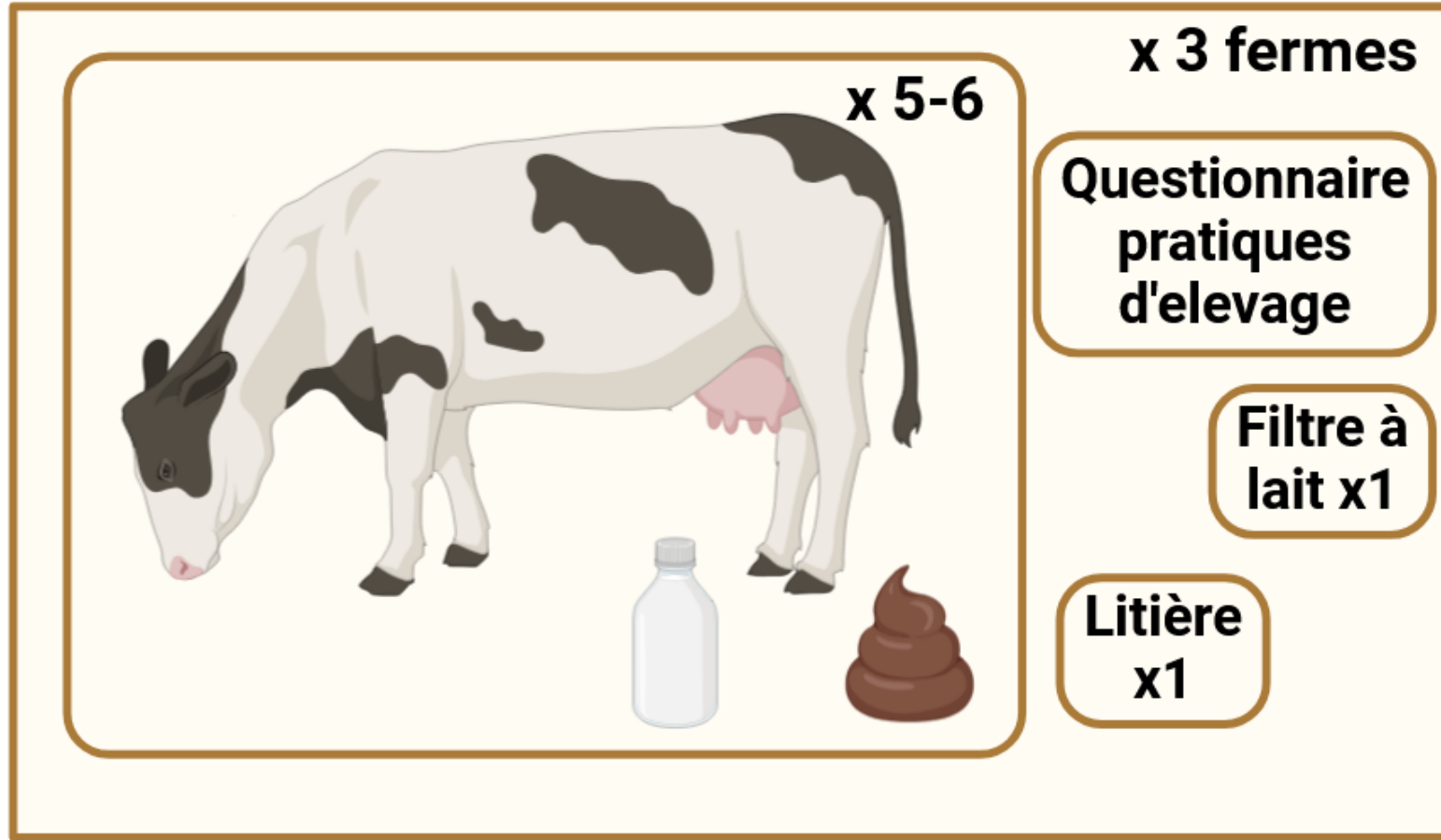
- Les mammites sont des infections **multifactorielles** de la mamelle qui peuvent être causées par une multitude de **pathogènes** de **gravité variable**¹. Elles figurent parmi les **maladies les plus fréquentes** dans les exploitations laitières².
 - Ces infections provoquent une perte de qualité et de quantité de lait produits et une **utilisation d'antibiotiques accrue**, qui induisent des **pertes économiques importantes** pour les éleveurs³.
 - Le **microbiote** de la mamelle est un **environnement complexe** qui semble jouer un rôle important dans le développement des mammites⁴. Cependant, les interactions entre les bactéries et les pathogènes qui le composent et le structurent sont encore mal connues.
- Comment les interactions entre pathogènes au sein du microbiote de la mamelle et dans l'environnement de la vache affectent le risque de mammites ?

QUESTIONS

- Quelles sont les **associations de pathogènes** retrouvées dans la mamelle et dans les fermes ?
- Quelles sont les **interactions** entre ces pathogènes et leurs impacts respectifs sur la **réponse immunitaire** de la vache ?
- Comment ces pathogènes évoluent-ils **au cours du temps** et quels **facteurs** influencent ces évolutions ?
- D'où viennent** les pathogènes qui infectent la mamelle ?

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Echantillonnage



Analyse de laboratoire

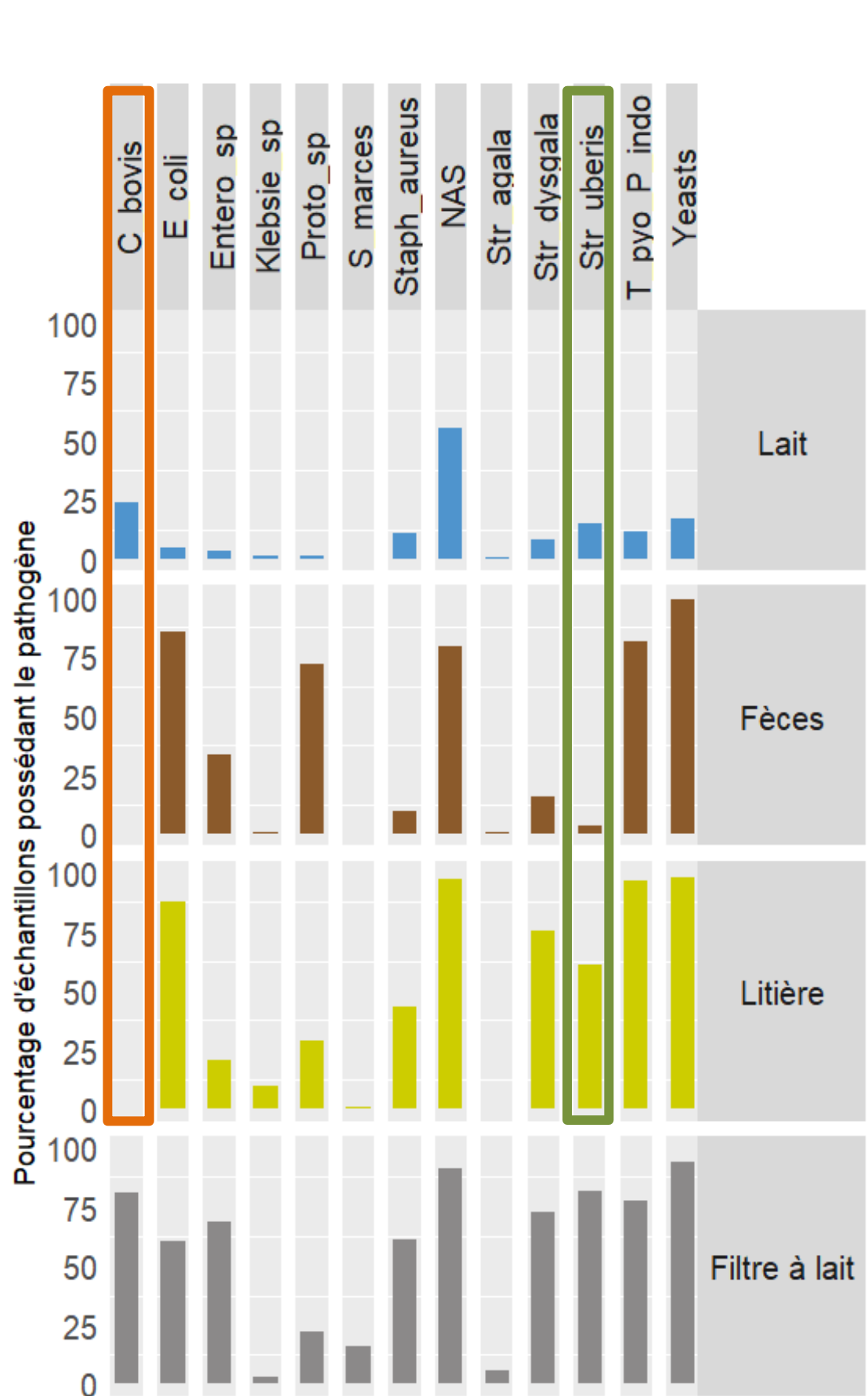
- Dénombrement des cellules somatiques
- Extraction de l'ADN 16S et qPCR
- qPCR PathoProof™ Complete-16 Kits**
 - Détection de **15 pathogènes responsables de mammites**
 - Courbe d'étalonnage à partir des témoins positifs** → proxy de nombre de copies

Statistique

- Corrélogramme : Test de Spearman sur les proxys de nombre de copies
- Clustering : Matrice de distance euclidienne après transformation logarithmique, regroupement hiérarchique (ward.D2) et représentation graphique multidimensionnelle (cmdscale)
- Matrice de transition (Markov)

RÉSULTATS

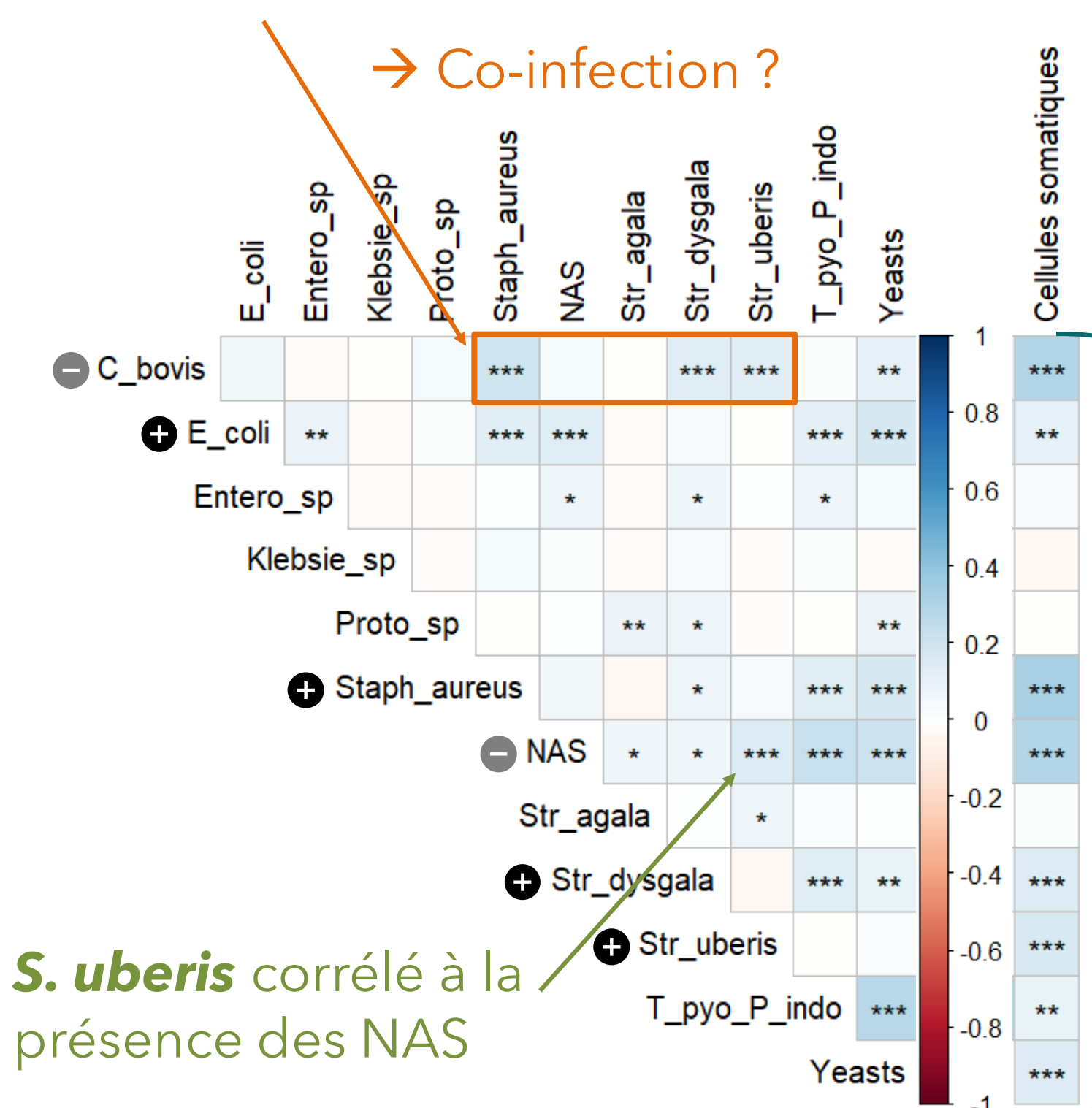
Les pathogènes dans leur environnement



- C. bovis** : commun dans le lait, absent des fèces et de la litière.
→ D'où vient-il ?
Équipement de traite ?
- S. uberis** : abondant dans la litière, peu dans les fèces.
→ Origine environnementale ?
Circulation entre la litière et la mamelle ?
- Filtre à lait** : quantité et diversité de pathogènes élevées par rapport au lait.
→ Assemblage de profils-types de pathogènes ?

Corrélation des pathogènes dans le lait

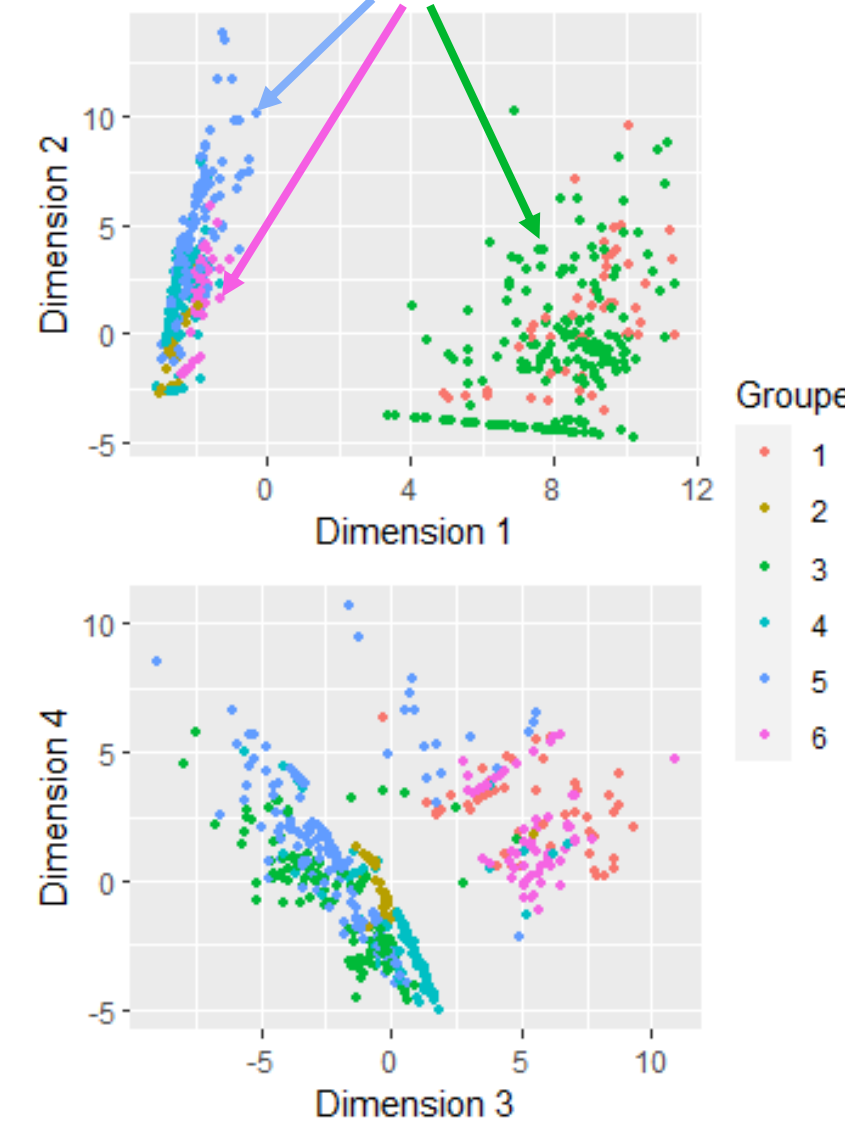
C. bovis corrélé à la présence de *S. aureus*, de *S. dysgalactiae* et de *S. uberis*



De nombreux pathogènes influencent la **réponse cellulaire**
 → Impact relatif des pathogènes **majeurs** et **mineurs** ?
 → Effet de leurs interactions sur la réponse cellulaire ?

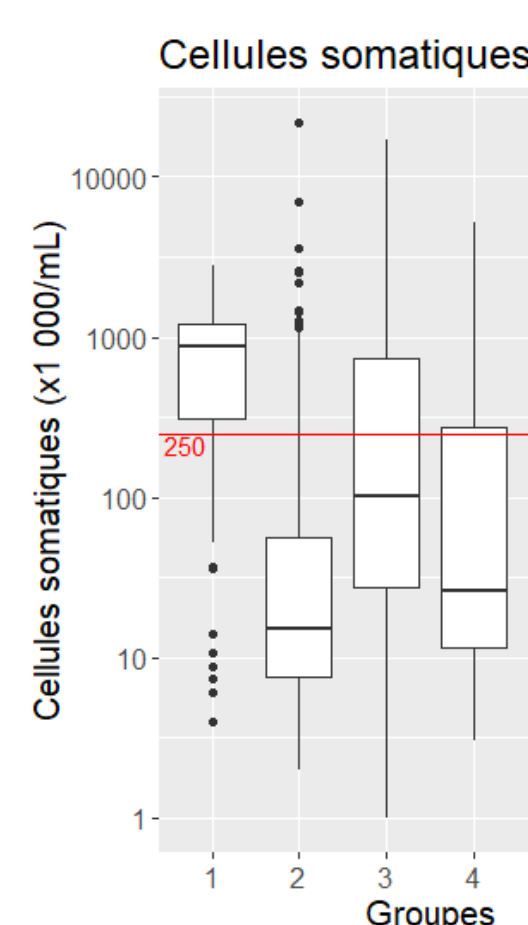
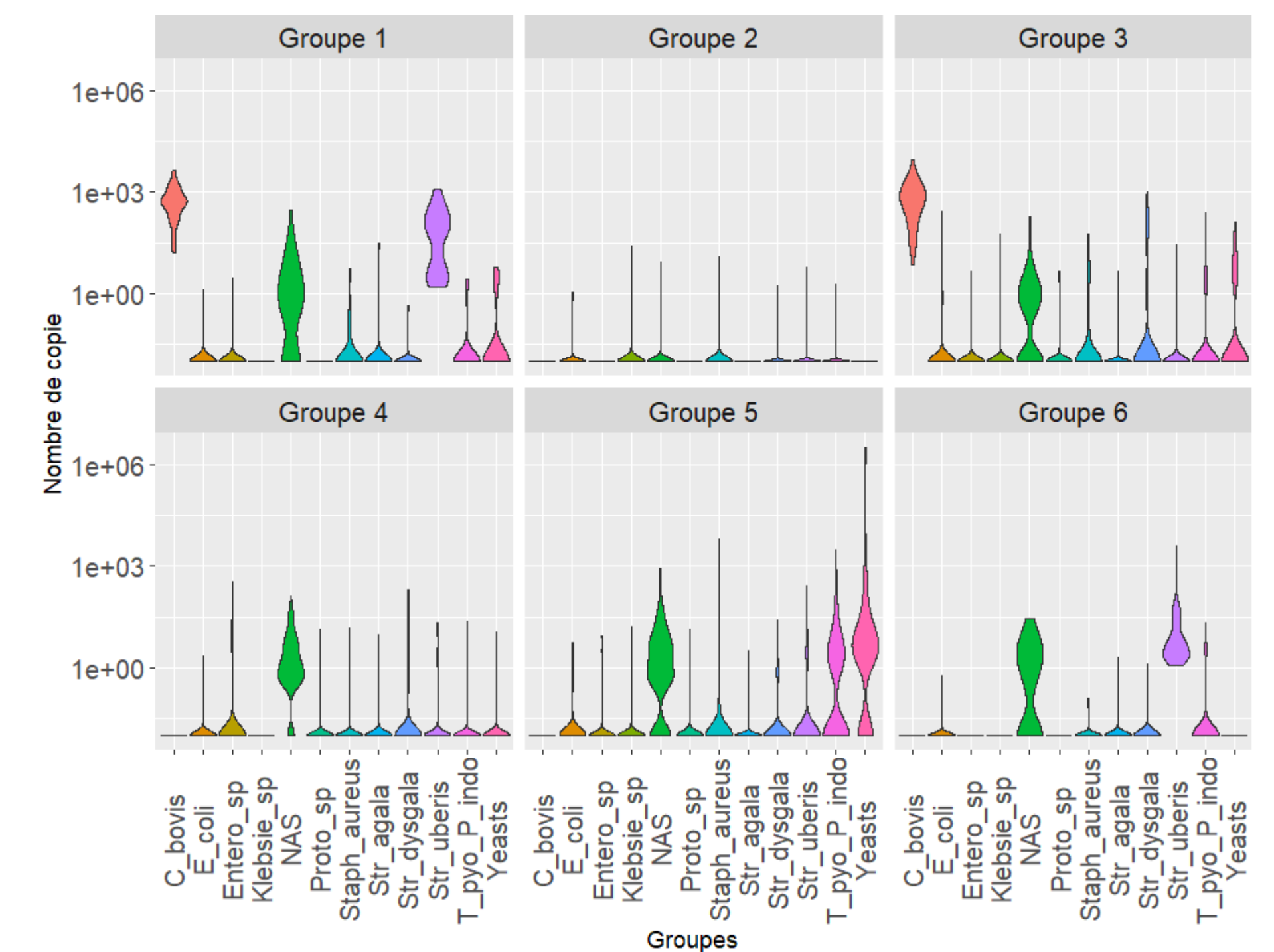
Clustering des échantillons de lait

Profils-types de pathogènes



Pathogènes structurants les profils-types

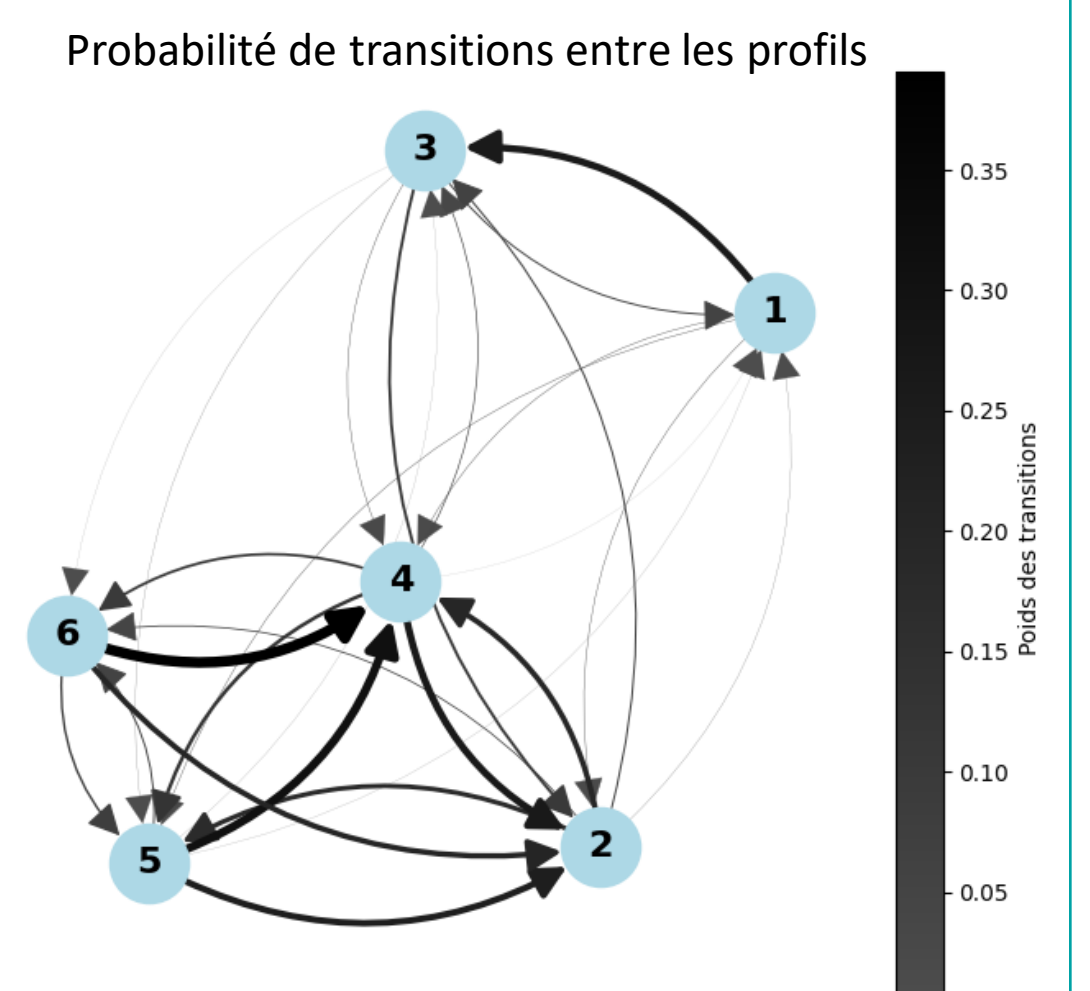
- C. bovis**
- non aureus Staphylococci**
- S. uberis**



- Profil 1 : *C. bovis*, NAS et *S. uberis* abondants et réponse cellulaire importante
→ **Mammites**
- Profil 2 : peu de pathogènes et réponse cellulaire faible
→ **Vaches saines**
- Profils 3 à 6 : présence de pathogène mais réponse cellulaire moins importante
→ Etats transitoires d'infection ?

Transitions entre profils

- Nombreuses transitions vers le profil 2
→ Utilisation d'antibiotiques ?
- Transition 1 ⇌ 3 et 6 ⇌ 4 : perte de *S. uberis* avec ou sans *C. bovis*
→ Pathogène contrôlé par l'immunité ?
Par le microbiote ?
- Aucune transition 1 ⇌ 6 : deux infections différentes à *S. uberis* / NAS avec une réponse cellulaire différente
→ *S. uberis* toujours associé à NAS ?
→ Plus virulent en présence de *C. bovis* ?



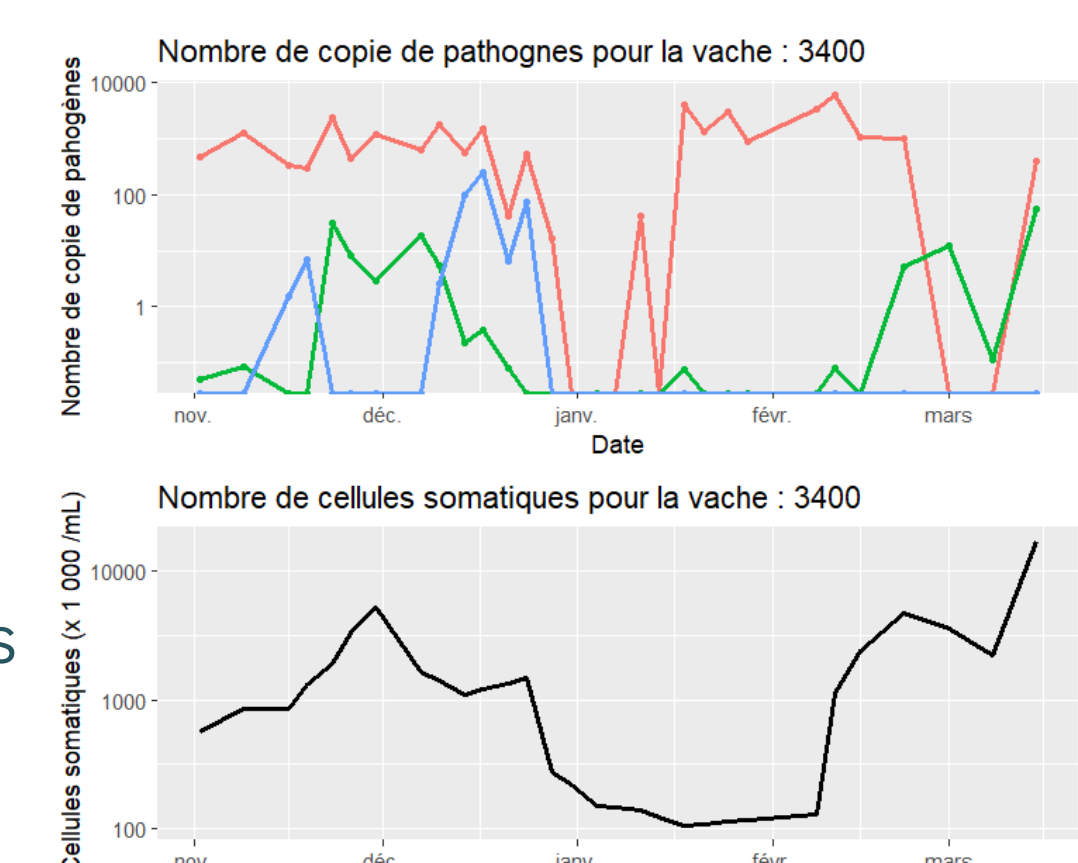
CONCLUSIONS

- Les **co-infections** sont courantes et impactent le risque de mammites
- Des **profils-types de pathogènes** sont retrouvés inter-fermes
- Les **transitions entre profils-types illustrent les schémas d'infection et de rétablissement de la mamelle**

PERSPECTIVES

Modélisation dynamique des pathogènes
 → Temporalité des événements
 → Ajout des perturbations extrinsèques

Données de séquençage : analyse du microbiote
 → Profils-types et espèces structurantes
 → Interactions bactéries commensales/pathogènes
 → Circulation bactérienne entre compartiments microbiens



C. bovis : *Corynebacterium bovis*
E. coli : *Escherichia coli*
Enterosp : *Enterococcus* spp.
Klebsie : *Klebsiella* spp.
S. marces : *Serratia marcescens*
Proto_sp : *Prototheca* spp.
Staph_aureus : *Staphylococcus aureus*
 NAS : non aureus *Staphylococci*
Str_agala : *Streptococcus agalactiae*
Str_dysgala : *Streptococcus dysgalactiae*
Str_uberis : *Streptococcus uberis*
T_pyo_p_indo : *Trueperella pyogenes*
Peptoniphilus indolicus
 Yeasts : levures