

Y. AMIGUES, J.-C. MÉRIAUX, M.-Y. BOSCHER

LABOGENA, Domaine de Vilvert,
78352 Jouy-en-Josas cedex

e-mail : LABOGENA@jouy.inra.fr

7 - Utilisation des marqueurs génétiques

Utilisation de marqueurs génétiques en sélection : les activités de LABOGENA

Résumé. Le diagnostic génétique appliqué à la sélection animale n'est pas récent, mais des progrès fantastiques ont été réalisés ces dernières années grâce à l'émergence des techniques de biologie moléculaire. L'évolution du nombre d'analyses réalisées par LABOGENA, 45 000 en 1988 pour plus de 100 000 en 1998, est bien la preuve de cet essor. Si deux tiers des activités demeurent traditionnelles, 30 % sont réalisées grâce aux marqueurs de l'ADN et la tendance va encore s'accroître. La biologie moléculaire permet de réaliser des progrès et d'augmenter les possibilités de diagnostic : les supports biologiques utilisables sont nombreux (sang, poil, peau, viande, embryon, sperme ...) ; l'émergence de nouveaux marqueurs polymorphes comme les marqueurs microsatellites de l'ADN permet l'identification et le contrôle de filiations pour de nouvelles espèces (Porc, Chien, Turbot ...) ; les diagnostics peuvent être réalisés très précocement par l'analyse directe des variations des gènes impliqués (exemple de la qualité fromagère du lait déterminée sur les futurs reproducteurs mâles) ; les pathologies d'origine génétique peuvent être recherchées par les mutations causales (hyperthermie maligne, tremblante ...). Ces informations sur les génotypes aident les sélectionneurs à définir leurs stratégies et permettent d'assurer une bonne gestion des reproducteurs et des populations animales.

Groupement d'Intérêt Économique (GIE) créé en juillet 1994, LABOGENA associe l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) et des partenaires institutionnels et associatifs de l'élevage français : Institut de l'Élevage, Haras Nationaux, Assemblée Permanente des Chambres d'Agriculture (APCA), France UPRA Sélection et Union Nationale des Coopératives agricoles d'Élevage et d'Insémination Artificielle (UNCEIA).

LABOGENA est un laboratoire de prestations à l'interface de la recherche et de l'élevage. Il aide à la bonne gestion des reproducteurs et des populations animales par l'identification et le contrôle des origines, le dépistage de maladies génétiques et le typage d'allèles d'intérêt zootechnique. Il transfère les connaissances acquises par les laboratoires de recherche en génétique animale et les adapte aux analyses de routine. Grâce à la veille technologique permanente et en coopération étroite avec les équipes de recherche, LABOGENA met à profit les progrès de la biologie moléculaire pour un nombre croissant d'applications.

Pour garantir l'identité et l'origine des animaux, LABOGENA utilise les outils biologiques les plus performants pour identifier les individus (systèmes de groupes sanguins, protéines du sang et polymorphismes de l'ADN). Les filiations sont contrôlées en comparant le génotype (l'empreinte

génétique) d'un animal avec celle de ses parents présumés. Depuis sa création, le laboratoire a identifié plus d'un million d'animaux et contrôlé 800 000 filiations (figure 1). Cette activité d'identification et de contrôle de filiation s'applique aujourd'hui à sept espèces de mammifères (bovins, chevaux, moutons, chèvres, chiens, ânes, porcs) et à des espèces aquacoles comme le turbot. LABOGENA fournit ainsi à l'élevage un moyen fiable et efficace de valorisation des animaux.

LABOGENA alimente les grands programmes de recherche sur le génome des animaux domestiques menés par le Département de Génétique Animale de l'INRA, grâce à ses capacités de typage (plus de 320 000 depuis 1996 pour les bovins et les porcs).

LABOGENA analyse en routine (figure 2) le génotype des reproducteurs sur des caractères de production et les mutations impliquées dans différentes pathologies (près de 10 000 diagnostics annuels) :

- variants des caséines du lait chez les taureaux ou les boucs d'insémination ;
- BLAD du bovin, hyperthermie maligne du porc et tremblante du mouton.

Les informations de génotypes ainsi recueillies sont fournies aux sélectionneurs qui peuvent les intégrer à leurs stratégies de sélection.

Figure 1. Evolution du nombre d'analyses réalisées par LABOGENA sur la période 1993-1998.

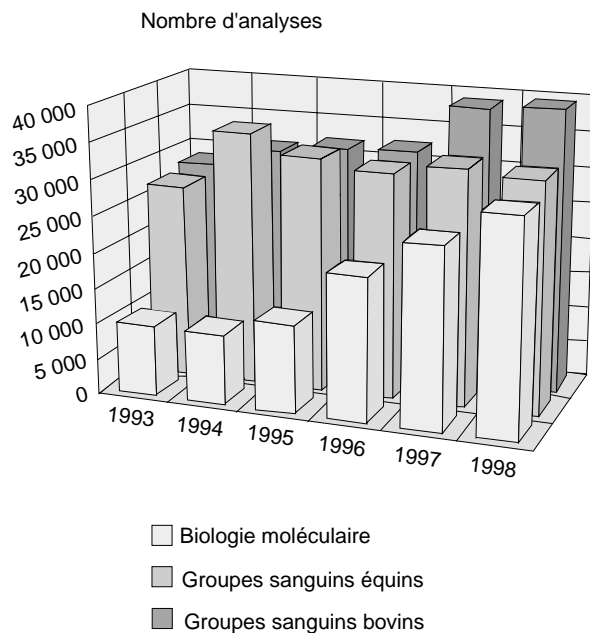
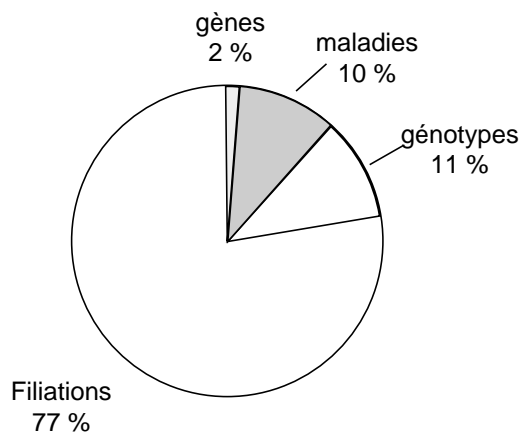


Figure 2. Répartition des analyses réalisées en 1998 par LABOGENA.
Gènes : génotypes de caractères de production ; génotypes : génotypes de marqueurs microsatellites.



1 / Identification génétique des individus et contrôle de filiations

1.1 / Identification

Il peut être utile d'identifier génétiquement un individu dans plusieurs cas : une suspicion de fraude émise par les services vétérinaires lors d'opérations de prophylaxie notamment, lors d'enquêtes judiciaires dans le cas de vols ou, dans le cas plus fréquent, de mères donneuses d'embryon pour pouvoir procéder par la suite, dans le cadre des différentes réglementations, au contrôle de filiation lors de la naissance du veau (Boscher et Mériaux 1994). Les étalons sont identifiés avant leur première saison de monte publique (arrêté du 29/12/76) ; de

même, un contrôle est effectué en cas de signalement non conforme (compétitions ou ventes).

La traçabilité des aliments est une préoccupation actuelle à laquelle il est possible de répondre par l'identification d'un échantillon de viande non cuite prélevé à l'abattoir ou même sur l'étal du boucher. Une étude conduite en collaboration avec le Département de Génétique Animale de l'INRA et un partenaire professionnel a permis de vérifier la faisabilité pratique de cette traçabilité biologique pour l'espèce bovine.

1.2 / Les contrôles de filiation

L'enregistrement des généalogies ou filiations des animaux a débuté au siècle dernier avec les premiers Livres Généalogiques (herd-books bovins et porcins, flock-books ovins et stud-books équins). La loi sur l'élevage de 1966 a organisé l'identification sous forme numérique des animaux et la circulation de ces informations d'état civil entre les fichiers départementaux, régionaux, nationaux et raciaux.

Les différents acteurs de l'amélioration génétique utilisent le contrôle de filiation pour s'assurer de l'exactitude des généalogies enregistrées dans les fichiers des chaînes nationales d'identification. L'importance de cette exactitude s'est encore accrue avec l'utilisation du Blup-modèle animal dans l'évaluation des reproducteurs.

Le ministère de l'Agriculture édicte des réglementations : contrôles de filiation pour les reproducteurs à large diffusion tels que les taureaux d'insémination artificielle (arrêtés du 17/02/59 et du 08/03/74). Le contrôle obligatoire a également été institué pour tous les veaux nés de transfert d'embryon (Ministère de l'Agriculture, 01/07/87), pour tous les équidés produits d'insémination artificielle (arrêté du 23/12/86) ainsi que pour tous les produits de race Pur-sang (Haras Nationaux, 1986), Arabe (Haras Nationaux, 1988) et Trotteur (Haras Nationaux, 1994).

Lors de l'exportation ou de l'importation d'un reproducteur ou d'un embryon, un certificat d'identification génétique et de contrôle de filiation est obligatoirement échangé entre le laboratoire du pays de départ et celui d'accueil. Ce document servira à effectuer les contrôles de filiation sur les descendants de cet animal.

Il est donc indispensable, dans ce contexte, qu'un certain nombre de règles soient fixées à travers le monde. Une nomenclature internationale est ainsi établie et un auto-contrôle des laboratoires est effectué au sein d'une association : l'ISAG (International Society for Animal Genetics). Cette association organise notamment tous les deux ans un test de comparaison des marqueurs utilisés dans chaque pays pour l'identification et le contrôle des filiations.

LABOGENA est le seul laboratoire en France qui effectue les contrôles de filiation pour les espèces d'élevage : les bovins (21 000 contrôles de filiation en 1998 correspondant à 39 124 analyses), les équins (25 580 pour 31 880 analyses), les ovins (2 000 pour 3 780 analyses), les caprins (800 pour 1 470 analyses). Le laboratoire a ainsi effectué près de 80 000 analyses dans le cadre des contrôles de filiation pour l'année 1998.

1.3 / Situation antérieure

Le choix des techniques utilisées pour l'identification et le contrôle de filiation repose sur la connaissance des systèmes génétiques qui les déterminent (Boscher et Guérin-Faublée 1994, Guérin-Faublée *et al* 1994). Les critères d'un tel choix correspondent aux exigences de fiabilité des contrôles de filiation : les systèmes utilisés doivent être indépendants, avec un taux de mutation le plus faible possible, suffisamment polymorphes et hérités simplement selon les lois de Mendel, faciles à mettre en évidence par un test simple et automatisable. De plus, l'efficacité des tests dépend du nombre de marqueurs utilisés, de la fréquence relative des allèles dans une population donnée et de leurs relations génétiques

(codominance ou dominance/récessivité). Partant de ce postulat et selon les espèces, les groupes sanguins (antigènes érythrocytaires) sont ou non suffisamment efficaces. Les premiers travaux du laboratoire dans le domaine des groupes sanguins des bovins ont permis, dès 1958, de contrôler les filiations des bovins pour répondre à la demande des professionnels de l'élevage.

Si le cas du bovin est le plus favorable, pour les autres espèces il était nécessaire, pour obtenir une efficacité suffisante, de recourir à des systèmes complémentaires (détection, par électrophorèse, du polymorphisme des protéines sériques ou d'enzymes érythrocytaires) : voir tableau 1.

Tableau 1. Efficacité du contrôle de filiation (probabilité d'exclusion) calculée à partir des fréquences des allèles observées dans les populations.

Espèce	Bovine	Equine	Ovine	Caprine
Techniques mises en œuvre				
Antigènes érythrocytaires				
- hémolyse	75	9	30	28
- agglutination	-	24	2	-
Electrophorèse de protéines	-	10	4	-
Nombre de systèmes génétiques	11	17	12	6
Efficacité = probabilité d'exclusion	0,96 (Holstein) 0,99 (Charolaise)	0,952 (Pur Sang) 0,954 (Arabe)	0,88 (Lacaune)	0,75 (Alpine) 0,71 (Saanen)

1.4 / Développement de nouvelles techniques d'identification et de contrôle de filiation

Pour la plupart des espèces, l'avènement des biotechnologies a apporté un grand progrès. Les recherches engagées par différentes équipes visent à obtenir des marqueurs de l'ADN (mis en évidence par des techniques de PCR ou équivalentes) correspondant aux exigences précédemment énoncées et qui améliorent les résultats déjà obtenus avec les marqueurs classiques. Le choix s'est porté sur les microsatellites car leurs qualités en font de très bons outils pour l'identification et le contrôle de filiation.

Les échanges de reproducteurs entre pays obligent les laboratoires effectuant le contrôle de filiation à travers le monde à uniformiser les techniques utilisées selon des standards définis au sein de l'ISAG. Ce travail de longue haleine doit prendre en compte les contraintes d'espèces ou de niveau de développement des différents laboratoires. LABOGENA est membre de cette société savante et participe à la réflexion sur tous les changements et progrès à apporter aux différentes pratiques.

Chaque espèce bénéficie des travaux de cartographie qui sont menés par de nombreuses équipes à travers le monde et qui ont permis la production et la caractérisation d'un grand nombre de marqueurs microsatellites. Leur utilisation pour la détection des QTL, le cas échéant, permet d'accumuler des données techniques précieuses. Des études de populations sont actuellement réalisées qui permettent de connaître le polymorphisme de ces marqueurs dans différentes populations (allèles présents et fréquences). Le recueil de ces différents éléments nous

permet d'effectuer un choix argumenté pour l'identification et le contrôle de filiation.

Depuis 1994, un test utilisant les microsatellites est utilisé avec succès en routine pour les caprins et, depuis 1997, pour les ovins. C'est grâce à cette nouvelle technologie utilisant les microsatellites que sont maintenant possibles des tests d'identification et de contrôle de filiation sur pratiquement toutes les espèces d'élevage. LABOGENA est ainsi capable maintenant d'identifier et de contrôler les filiations d'espèces comme le chien, le porc, l'âne et le turbot. LABOGENA répond aux diverses demandes en la matière.

1.5 / Exemple du cheval

Pour les équins, les travaux effectués au Laboratoire de Génétique biochimique et de Cytogénétique (INRA Jouy-en-Josas) visent à la production et la caractérisation de marqueurs microsatellites utilisables (Guérin *et al* 1994). Trois de ces microsatellites sont actuellement adoptés au plan international et font partie du panel de marqueurs standards. Le consensus international n'est pas encore obtenu pour l'utilisation des marqueurs microsatellites. Cependant, nous avons d'ores et déjà pris la décision avec les autorités hippiques françaises d'opérer ce changement dès le début de l'année 2000. Nous avons choisi 11 marqueurs parmi lesquels 9 constituent le minimum standard admis au niveau international (ISAG). Un aliquot d'ADN de tous les étalons utilisés à la monte est stocké. Une opération pilote sur près de 2 500 filiations a été réalisée afin de vérifier à grande échelle la faisabilité tant technique que scientifique de cette méthode (tableau 2).

Tableau 2. Efficacité, dans deux races de chevaux, des marqueurs microsatellites utilisés en France.

Microsatellites			ISAG	Pur Sang		Arabe	
Nom	Origine	Référence		Nombre d'allèles	Probabilité d'exclusion	Nombre d'allèles	Probabilité d'exclusion
AHT4	G.B.	(Binns <i>et al</i> 1995)	Oui	6	0,49	7	0,57
AHT5	G.B.	(Binns <i>et al</i> 1995)	Oui	6	0,51	6	0,45
ASB2	Australie	(Breen <i>et al</i> 1997)	Oui	8	0,68	8	0,37
HMS1	France	(Guérin <i>et al</i> 1994)		4	0,35	6	0,36
HMS3	France	(Guérin <i>et al</i> 1994)	Oui	6	0,35	6	0,46
HMS6	France	(Guérin <i>et al</i> 1994)	Oui	7	0,32	6	0,46
HMS7	France	(Guérin <i>et al</i> 1994)	Oui	5	0,58	7	0,53
HTG4	Suède	(Ellegren <i>et al</i> 1992)	Oui	5	0,25	6	0,41
HTG6	Suède	(Ellegren <i>et al</i> 1992)		7	0,33	7	0,37
HTG10	Suède	(Marklund <i>et al</i> 1994)	Oui	7	0,54	8	0,53
VHL20	Hollande	(Van Haeringen <i>et al</i> 1994)	Oui	7	0,50	10	0,62
Total				68	0,9989	77	0,9991
Probabilité d'identité				4,6 10⁻¹⁰		1,8 10⁻¹²	

En contrôlant parallèlement un certain nombre de filiations par les techniques anciennes et les microsatellites, on peut vérifier par la pratique l'efficacité théorique calculée. Nous avons ainsi contrôlé 2 300 filiations pour lesquelles nous avons détecté 19 incompatibilités avec les deux méthodes. En revanche, les microsatellites ont permis de détecter 4 incompatibilités supplémentaires, montrant ainsi leur meilleure efficacité.

L'efficacité théorique des microsatellites vérifiée sur un grand nombre de filiations et le stockage de l'ADN des reproducteurs depuis une dizaine d'années, vont nous permettre d'effectuer le changement technique dès 2000. Ce seront alors deux tiers de nos activités qui s'effectueront avec les techniques de biologie moléculaire.

Pour les bovins, ce changement pourrait s'effectuer assez rapidement. Cependant, la technique des groupes sanguins reste actuellement, en France, efficace et peu coûteuse.

1.6 / Typages en routine

Le tableau 3 présente le bilan des analyses réalisées pour les différentes espèces et les techniques utilisées.

2 / Tests de diagnostic : exemple de la susceptibilité génétique à la tremblante

Depuis 1993, date de création de l'unité de Biologie Moléculaire au sein de LABOGENA, la demande d'analyses génétiques ADN (détection de maladies génétiques, analyse du polymorphisme de gènes d'intérêt zootechnique, contrôle de filiation à l'aide de marqueurs microsatellites ...) n'a cessé

Tableau 3. Pratique actuelle des contrôles de filiation en France.

Espèce	Bovine	Equine	Caprine	Ovine	Canine	Porcine	Turbot	Ane
Nombre annuel d'analyses	38 000	32 000	1 500	4 500	200	-	600	100
Stockage d'ADN des reproducteurs	en cours	1991	1993	1996	-	en cours	-	-
Technique utilisée								
• Groupes sanguins (+électrophorèse) en routine	de 1958 à 2001 ?	de 1975 à 1999	de 1989 à 1995	de 1972 à 1996	-	-	-	-
• Microsatellites - en complément de diagnostic	quelques cas	quelques cas	-	-	-	-	-	-
- en routine seuls à partir de	2002 ?	2000	1996	1997	1995	1999	1997	1997

d'augmenter. La nécessité d'absorber ces nouvelles demandes, tout en utilisant au mieux le matériel et en optimisant le coût des prestations, nous conduit à améliorer constamment les techniques de génotypage.

L'étude du polymorphisme du gène PrP aux trois codons (136, 154 et 171) impliqués dans les mécanismes de résistance et de sensibilité à la tremblante en est un parfait exemple. En effet la tremblante du mouton, ou scrapie, est une encéphalopathie spongiforme de même type que l'ESB des bovins. Si la nature de(s) l'agent(s) pathogène(s) et les voies de transmission de la maladie ne sont pas connus avec certitude, l'existence d'un contrôle génétique de la sensibilité à la tremblante est, en revanche, bien établie (Hunter *et al* 1989, Goldmann *et al* 1991). L'analyse moléculaire de la structure du gène PrP montre la ségrégation d'allèles différant les uns des autres par une mutation ponctuelle. Une sélection pour la résistance à la tremblante, basée sur des analyses en laboratoire du gène PrP, est donc envisageable.

Sur la base de différents travaux, montrant la prépondérance des trois codons 136, 154, 171 dans les mécanismes de sensibilité-résistance à la tremblante (tableau 4 ; Laplanche *et al* 1993a et 1993b, Cloucard *et al* 1995, Elsen *et al* 1996 et 1999), LABOGENA, en étroite collaboration avec les laboratoires INRA de Toulouse (Station d'Amélioration génétique des Animaux - SAGA et Laboratoire de Génétique Cellulaire) et le laboratoire de Biologie Cellulaire de la Faculté de Pharmacie de Paris, a mis au point rapidement un test permettant l'analyse du gène PrP au codon 171. A la demande de la SAGA, nous avons étendu le génotypage aux deux autres codons (136 et 154) de ce même gène.

Dans un premier temps, ces analyses étaient effectuées par une méthode classique de PCR/RFLP avec analyse individuelle et manuelle pour chaque codon. Afin de faire face à un nombre toujours croissant d'analyses, LABOGENA a mis au point, dans le cadre d'un contrat européen (Improving prospect for Scrapie control in sheep and goats by studies of host genotypes, CT 97-3305), une méthode automatique de génotypage des codons 136, 154 et 171 du gène PrP.

2.1 / Matériel et méthode

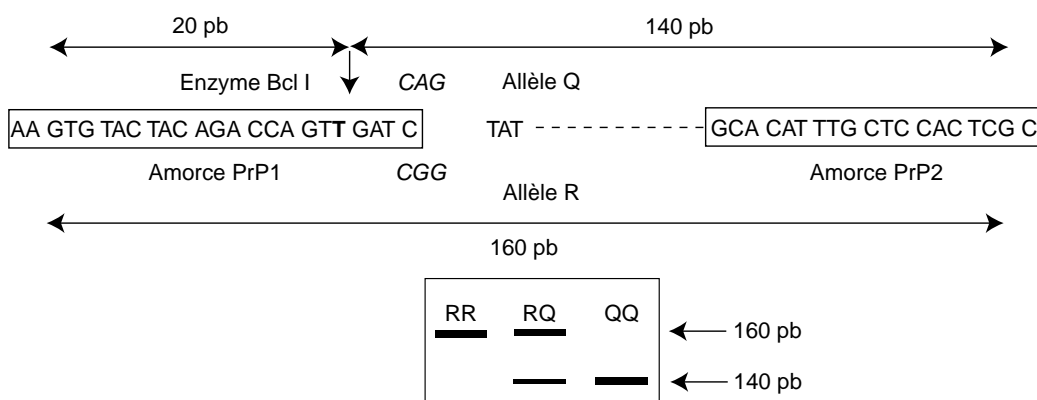
Au cours de ces dernières années la technique de PCR/RFLP a été l'une des méthodes les plus utilisées pour analyser les mutations. Cette technique fiable et relativement rapide s'appuie sur deux principes : d'une part l'amplification de l'ADN par PCR (réaction de polymérisation en chaîne de l'ADN), méthode permettant de copier un très grand nombre de fois un fragment d'ADN à l'aide d'amorces encadrant la mutation recherchée, et d'autre part la détection de cette mutation par RFLP (polymorphisme de longueur de fragments de restriction), coupure (ou fragmentation) du produit d'amplification à l'aide d'un enzyme de restriction reconnaissant spécifiquement une séquence d'ADN bien déterminée. Un exemple est donné dans la figure 3.

Tableau 4. Polymorphisme analysé aux codons 136, 154 et 171 du gène PrP chez les ovins. Acides aminés : Ala (A) = alanine, Arg (R) = arginine, Gln (Q) = glutamine, His (H) = histidine, Val (V) = valine.

Codons	136	154	171
Forme ancestrale	Ala (A)	Arg (R)	Gln (Q)
	Val (V)	Arg (R)	Gln (Q)
Formes mutées	Ala (A)	Hist (H)	Gln (Q)
	Ala (A)	Arg (R)	Arg (R)

L'analyse des codons 136 et 154 est basée sur le même principe. Cette technique manuelle (détection sur gel d'agarose et lecture non automatisée) nécessite un génotypage individuel pour chaque codon. Il était donc intéressant d'optimiser l'analyse de ces trois codons à l'aide du matériel existant au laboratoire. L'utilisation du séquenceur automatique est des plus utiles ; en effet, la technique mise au point à LABOGENA (figure 4) permet une détection simultanée du polymorphisme des trois codons. Le marquage fluorescent d'une amorce permet, après amplification et digestion des fragments de taille compatible avec la détection fine du séquenceur, d'identifier le génotype PrP d'un individu. De plus, l'utilisation possible de trois fluorophores différents permet de génotyper trois individus lors d'une même analyse.

Figure 3. Détection de la mutation Arginine (R)-Glutamine (Q) au codon 171 du gène PrP ovin. Les fragments d'amplification digérés par l'enzyme de restriction sont séparés sur gel d'agarose et identifiés visuellement par l'opérateur.



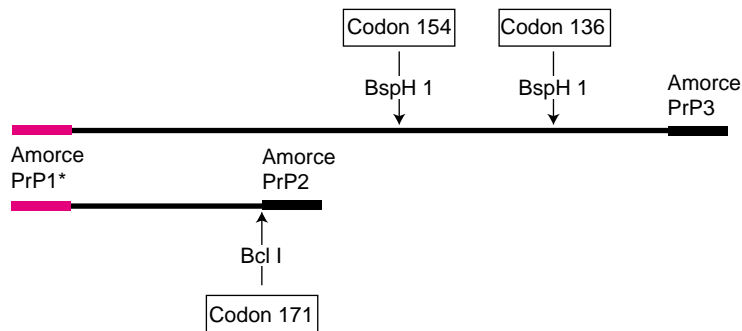


Figure 4. Détection simultanée des mutations du gène PrP. L'amorce PrP1* est fluorescente : trois couleurs permettent d'analyser trois individus dans un même temps. Les mutations sont détectées à l'aide des enzymes de restriction Bcl I (codon 171) et BspH I (codons 136 et 154).

2.2 / Résultats

Les génotypes rencontrés sont analysés à partir de la présence ou absence des différents fragments de restriction détectés à l'aide du séquenceur automatique (figure 5). Les résultats sont directement importés dans une base de données Oracle et sont interprétés en terme de génotype selon la correspondance indiquée au tableau 5.

Depuis le début des analyses en routine, au début

de l'année 1995, LABOGENA a analysé plus de 11 000 animaux pour le gène PrP ovin (figure 6). Ces analyses se répartissent en trois grands volets :

- génotypage des reproducteurs des unités de sélection ovines (4 000 échantillons) ;
- génotypage de différentes populations ovines dans le cadre de plusieurs programmes de recherche (7 000 échantillons) ;
- génotypage des animaux retenus dans le cadre du réseau d'épidémiologie-surveillance de la tremblante (une cinquantaine d'échantillons).

Figure 5. Exemple de profils obtenus sur séquenceur automatique capillaire lors de l'analyse simultanée de trois animaux pour les trois codons du gène PrP. L'ADN de chaque individu a été amplifié séparément avec une amorce fluorescente de couleur différente. Le mélange des trois échantillons s'effectue avant l'étape de digestion par les enzymes de restriction. Les profils sont analysés à l'aide de logiciels permettant une identification spécifique de chaque pic. La table de résultats ainsi obtenue est directement interprétée en terme de génotypes dans la base de données.

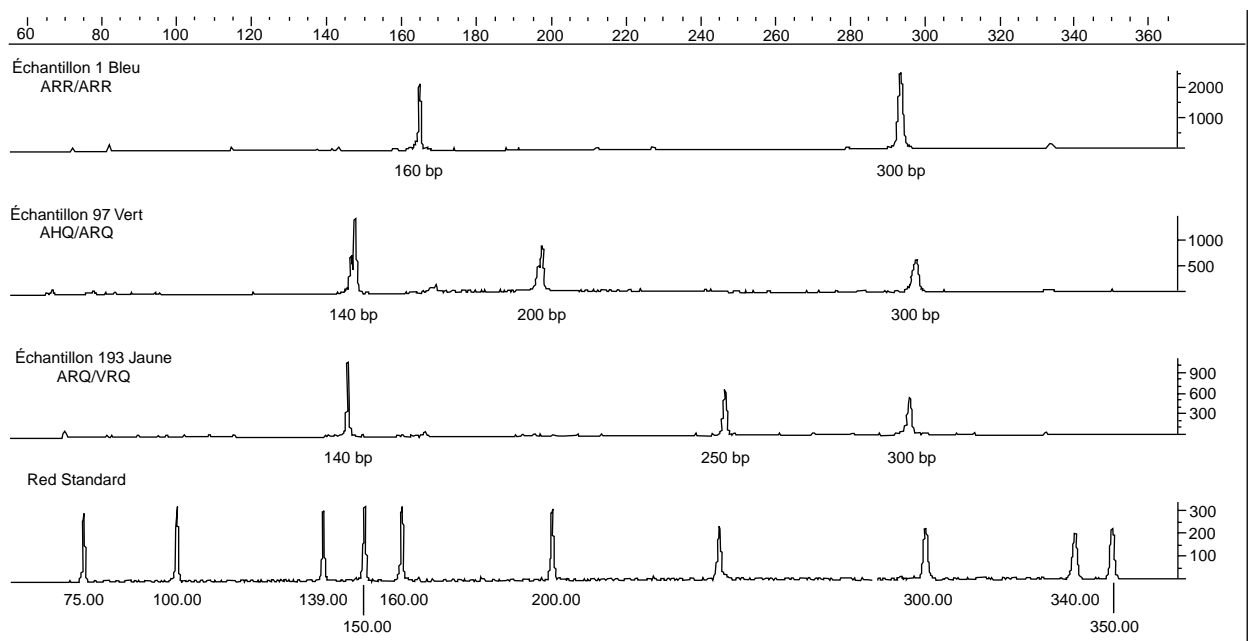
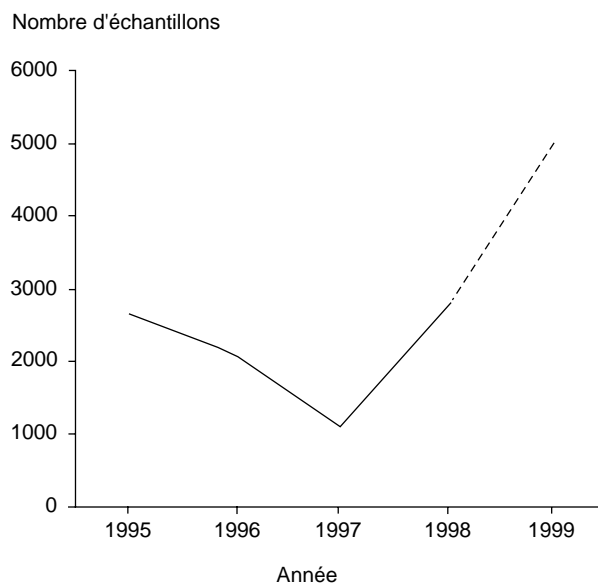


Tableau 5. Analyse des génotypes aux codons 136, 154 et 171 du gène PrP ovin en fonction des tailles des fragments détectés.

Allèles PrP	Taille des fragments				
	136-154-171	140 pb	160 pb	200 pb	250 pb
A-R-Q	+	-	-	-	+
A-R-R	-	+	-	-	+
A-H-Q	+	-	+	-	-
V-R-Q	+	-	-	+	-

Figure 6. Evolution du nombre d'analyses du gène PrP ovin.



Conclusion

Veille technologique

LABOGENA est un laboratoire au service de la sélection animale. A ce titre, et pour remplir au mieux sa mission, toute une organisation est nécessaire, car il convient de conserver le niveau le plus élevé et la meilleure qualité au prix le plus juste.

Ayant fait ses preuves dans le typage de maladies à déterminisme génétique, le laboratoire garde une veille permanente sur toutes les découvertes faites à travers le monde et à l'INRA dans ce domaine.

Le laboratoire bénéficie des travaux réalisés par les équipes de l'INRA sur le génome des animaux

d'élevage, pour la recherche des gènes impliqués dans les grandes fonctions. L'unité de recherche-développement de LABOGENA met au point un test qui peut être mis à disposition des éleveurs et utilisé en sélection. Ces possibilités d'aide à la sélection devraient beaucoup augmenter dans les prochaines années. Ainsi actuellement, LABOGENA participe à la caractérisation des races françaises au regard de deux gènes : le gène de la myostatine (mh) (projet UE n° CT 98-0421) déterminant le caractère culard des bovins, et le gène extension pour la coloration de la robe.

D'autre part, compte tenu des volumes importants d'analyses réalisées chaque année, un suivi permanent de l'équipement technique nécessaire est réalisé. C'est ainsi que nous nous intéressons à la détection de mutations ponctuelles par des techniques qui ont un potentiel d'automatisation important. Ces techniques constituent des étapes vers la miniaturisation sur les puces à ADN.

Assurance qualité

Le laboratoire est désormais positionné dans un système économique concurrentiel du fait, notamment, de l'émergence des techniques de biologie moléculaire qui rendent les diagnostics plus abordables par les laboratoires impliqués dans les biotechnologies.

La normalisation constante des procédures permet d'assurer la fiabilité des prestations. Pour maintenir la confiance des utilisateurs, le laboratoire s'est engagé dans une démarche d'assurance de la qualité et une demande d'accréditation selon le référentiel EN 45001 pour les diagnostics génétiques de maladies.

De plus, LABOGENA participe, au sein de l'ISAG, à la standardisation des méthodes d'identification génétique qui sécurise les échanges internationaux des animaux de grande valeur ou de leurs gamètes.

Références

- Binns M.M., Holmes N.G., Holliman A., Scott A.M., 1995. The identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in thoroughbred parentage testing. *British Veterinary Journal*, 151, 9-15.
- Boscher M.Y., Guérin-Faubleé V., 1994. Les groupes sanguins chez les bovins. La maladie hémolytique du nouveau-né et les accidents transfusionnels d'origine immunologique. *Le Point Vétérinaire*, 25, 29-32.
- Boscher M.Y., Mériaux J.C., 1994. Les groupes sanguins comme outil d'identification et de sélection des équins et des ruminants. *Le Point Vétérinaire*, 25, 33-39.
- Breen M., Lindgren G., Binns M.M., Norman J., Irvin Z., Bell K., Sandberg K., Ellegren H., 1997. Genetical and physical assignments of equine microsatellites - First integration of anchored markers in horse genome mapping. *Mammalian Genome*, 8, 267-273.
- Cloucard C., Beaudry P., Elsen J.M., Milan D., Dussaucy M., Bounneau C., Schelcher F., Chatelain J., Launay J.M., Laplanche J.L., 1995. Different allelic effects of the codons 136 and 171 of the prion protein gene in sheep with natural scrapie. *Journal of Genetic Virology*, 76, 2097-2101.
- Ellegren H., Johansson M., Sandberg K., Anderson L., 1992. Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse. *Animal Genetics*, 23, 133-142.
- Elsen J.M., Schelcher F., Amigues Y., Laplanche J.L., Cloucard C., Poivey J.P., Vu Tien Khang J., Eychenne F., Sarradin P., Lantier F., 1996. Preliminary analyses of a scrapie epidemic in a closed flock of Romanov. 47e Réunion annuelle de la Fédération Européenne de Zootechnie. Lillehammer, Norvège, 26-29 août 1996.
- Elsen J.M., Amigues Y., Schelcher F., Ducrocq V., Andréoletti O., Eychenne F., Vu Tien Khang J., Poivet J.P., Lantier F., Laplanche J.L., 1999. Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie : detailed analyses of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Archives of Virology*, 144, 431-445.
- Goldmann W., Hunter N., Benson G., Foster J.D., Hope J., 1991. Different scrapie-associated fibril proteins (PrP) are encoded by lines of sheep selected for different alleles of the *Sip* gene. *Journal of Genetic Virology*, 72, 2411-2417.
- Guérin G., Bertaud M., Amigues Y., 1994. Characterization of seven new horse microsatellites : HMS1, HMS2, HMS3, HMS5, HMS6, HMS7 and HMS8. *Animal Genetics*, 25, 62.

Guérin-Faubleé V., Mériaux J.C., Fortier G., Legendre M.F., Fontaine G.R., 1994. Application des groupes érythrocytaires équins : transfusion et maladie néonatale. *Le Point Vétérinaire*, 25, 21-28.

Hunter N., Foster J.D., Dickinson A.G., Hope J., 1989. Linkage of the gene for scrapie-associated fibril protein (PrP) to the Sip gene in Cheviot sheep. *Veterinary Record*, 124, 364-366.

Laplanche J.L., Chatelain J., Beaudry P., Dussaucy M., Bounneau C., Chatelain J., Launay J.M., 1993a. French autochthonous scrapied sheep without the 136 Val PrP polymorphism. *Mammalian Genome*, 4, 463-464.

Laplanche J.L., Chatelain J., Westanay D., Thomas S., Dussaucy M., Brugère-Picoux J., Launay J.M., 1993b. PrP polymorphisms associated with natural scrapie discovered by denaturing gradient gel electrophoresis. *Genomics*, 15, 30-37.

Marklund S., Ellegren H., Eriksson S., Sandberg K., Anderson L., 1994. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. *Animal Genetics*, 25, 19-23.

Van Haeringen H., Bowling A.T., Stott M.L., Lenstra J.A., Zwaagstra K.A., 1994. A highly polymorphic horse microsatellite locus: VHL20. *Animal Genetics*, 25, 207.