



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 17459

**To cite this version :**

Salve, Florian. *Évolution sur trois années des infestations parasitaires naturelles chez des brebis Blanc du Massif Central résistantes ou sensibles aux strongles gastro-intestinaux*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2016, 97 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

# ÉVOLUTION SUR TROIS ANNÉES DES INFESTATIONS PARASITAIRES NATURELLES CHEZ DES BREBIS BLANC DU MASSIF CENTRAL RÉSISTANTES OU SENSIBLES AUX STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**SALVE Florian**

Né, le 31 mai 1991 à Longjumeau (91)

---

**Directeur de thèse : M. Philippe JACQUIET**

---

## JURY

PRESIDENT :  
**M. Gérard CAMPISTRON**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :  
**M. Philippe JACQUIET**  
**M. Emmanuel LIENARD**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :  
**M. Dominique FRANÇOIS**

Chercheur INRA GenPhySE



*Répartition des Enseignants-Chercheurs par Département.*

Mise à jour : 06/09/2016

**DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN**

ELEVAGE ET PRODUITS/SANTÉ PUBLIQUE VÉTÉRINAIRE	SCIENCES BIOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES	SCIENCES CLINIQUES DES ANIMAUX DE COMPAGNIE, DE SPORT ET DE LOISIRS
<p><b>Responsable : M. SANS</b></p> <p><u>ALIMENTATION ANIMALE :</u> M. ENJALBERT Francis, PR Mme PRIYMENKO Nathalie, MC Mme MEYNADIER Annabelle, MC</p> <p><u>EPIDEMIOLOGIE :</u> Mathilde PAUL, MC</p> <p><u>MALADIES REGLEMENTEES-ZOONOSES- MEDECINE PREVENTIVE DES CARNIVORES DOMESTIQUES-DROIT VETERINAIRE :</u> M. PICAUVET Dominique, PR</p> <p><u>PARASITOLOGIE-ZOOLOGIE :</u> M. FRANC Michel, PR M. JACQUIET Philippe, PR M. LIENARD Emmanuel, MC Mme BOUHSIRA Emilie, MC</p> <p><u>HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS :</u> M. BRUGERE Hubert, PR M. BAILLY Jean-Denis, PR Mme BIBBAL Delphine, MC Mme COSTES Laura, AERC Mme DAVID Laure, MCC</p> <p><u>PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION :</u> M. BERTHELOT Xavier, PR M. BERGONIER Dominique, MC Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, PR Mme HAGEN-PICARD Nicole, PR M. NOUVEL Laurent-Xavier, MC Mme MILA Hanna, MC</p> <p><u>PATHOLOGIE DES RUMINANTS :</u> M. SCHELCHER François, PR M. FOUCRAS Gilles, PR M. CORBIERE Fabien, MC M. MAILLARD Renaud, MC M. MEYER Gilles, PR</p> <p><u>PRODUCTION ET PATHOLOGIE AVIAIRE ET PORCINE :</u> Mme WARET-SZKUTA Agnès, MC M. JOUGLAR Jean-Yves, MC M. GUERIN Jean-Luc, PR M. LE LOC'H Guillaume, MC</p> <p><u>PRODUCTIONS ANIMALES AMELIORATION GENETIQUE ECONOMIE :</u> M. DUCOS Alain, PR M. SANS Pierre, PR M. RABOISSON Didier, MC</p>	<p><b>Responsable : Mme GAYRARD</b></p> <p><u>ANATOMIE :</u> M. MOGICATO Giovanni, MC M. LIGNEREUX Yves, PR Mme DEVIERS Alexandra, MC</p> <p><u>ANATOMIE PATHOLOGIQUE - HISTOLOGIE :</u> M. DELVERDIER Maxence, PR Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, MC Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, PR Mme LACROUX Caroline, PR</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, MC</p> <p><u>MICROBIOLOGIE – IMMUNOLOGIE - MALADIES INFECTIEUSES :</u> M. MILON Alain, PR M. BERTAGNOLI Stéphane, PR M. VOLMER Romain, MC Mme BOULLIER Séverine, MC Mme DANIELS Héléne, MC</p> <p><u>BIOSTATISTIQUES :</u> M. CONCORDET Didier, PR M. LYAZRHI Faouzi, MC</p> <p><u>PHARMACIE-TOXICOLOGIE :</u> M. PETIT Claude, PR Mme CLAUW Martine, PR M. GUERRE Philippe, PR M. JAEG Philippe, MC</p> <p><u>PHYSIOLOGIE –PHARMACOLOGIE THERAPEUTIQUE :</u> M. BOUSQUET-MELOU Alain, PR Mme GAYRARD-TROY Véronique, PR Mme FERRAN Aude, MC M. LEFEBVRE Hervé, PR</p> <p><u>BIOCHIMIE :</u> Mme BENNIS-BRET Lydie, MC</p> <p><u>ANGLAIS :</u> M. SEVERAC Benoît, PLPA Mme MICHAUD Françoise, PCEA</p>	<p><b>Responsable : Mme CADIERGUES</b></p> <p><u>ANESTHESIOLOGIE</u> M. VERWAERDE Patrick, MC</p> <p><u>CHIRURGIE :</u> M. AUTEFAGE André, PR M. ASIMUS Erik, MC M. MATHON Didier, MC Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, MC Mme PALIERNE Sophie, MC</p> <p><u>MEDECINE INTERNE :</u> Mme DIQUELOU Armelle, MC M. DOSSIN Olivier, MC Mme LAVOUE Rachel, MC Mme GAILLARD-THOMAS Elodie, MCC</p> <p><u>OPHTALMOLOGIE :</u> M. DOUET Jean-Yves, MC</p> <p><u>DERMATOLOGIE :</u> Mme CADIERGUES Marie-Christine, PR</p> <p><u>IMAGERIE MEDICALE</u> M. CONCHOU Fabrice, MC</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme TRUMEL Catherine, PR</p> <p><u>PATHOLOGIE DES EQUIDES :</u> M. CUEVAS RAMOS Gabriel, MC Mme PRADIER Sophie, MC Mme LALLEMAND Elodie, AERC</p>



# Remerciements

*A notre Jury de thèse,*

**Monsieur le Professeur Gérard CAMPISTRON,**

Professeur des Universités,  
*Physiologie et hématologie*

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.  
Veuillez trouver ici l'expression de nos hommages respectueux.

**Monsieur Philippe JACQUIET,**

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
*Parasitologie et Maladies Parasitaires*

Qui m'a donné les outils pour améliorer ma pratique quotidienne de la parasitologie.  
Qui m'a confié ce travail et m'a guidé dans son élaboration, en trouvant toujours le mot juste et la formulation exacte.  
Qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon plus profond respect.

**Monsieur Emmanuel LIENARD,**

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
*Parasitologie et Maladies Parasitaires*

Qui nous a fait l'honneur de participer à ce jury de thèse.  
Veuillez trouver ici nos sincères remerciements.

**Membre invité :**

**Monsieur Dominique FRANCOIS,**

Chercheur à l'unité UMR 1388 à l'INRA-GenPhySe,  
*Génétiques animales*

Qui nous a fait l'honneur de participer à ce jury de thèse.  
Qui nous a secondé dans l'analyse statistique des données présentées ici.  
Veuillez trouver ici nos remerciements pour votre accueil et votre disponibilité.

*A l'ensemble des personnes ayant permis ce travail,*

**A l'équipe de la station FEDATEST,**

Pour leur disponibilité, leur gentillesse lors des déplacements à Mazeyrat d'Allier.

**A Christelle, Françoise et Jean-Paul,**

Pour leur aide à toutes les manipulations coproscopiques, hématologiques et sérologiques de l'étude. Merci pour tout le temps passé à m'expliquer la technique, le fonctionnement des machines et à régler les problèmes divers.

*A l'ensemble des enseignants et encadrants des Ecoles Nationales Vétérinaires de Toulouse et d'Alfort,*

Pour m'avoir transmis leur savoir, leur passion, et avoir fait de moi, j'espère, un vétérinaire sérieux. J'espère être à la hauteur de votre enseignement. Merci beaucoup.

# Table des matières

Table des illustrations.....	3
Table des tableaux.....	5
Table des annexes .....	7
Liste des abréviations .....	9
Introduction .....	11
ETAT DES LIEUX DE LA RESISTANCE GENETIQUE DES OVINS AUX STRONGLES GASTRO- INTESTINAUX .....	13
1. L'élevage ovin en France.....	15
1.1. Situation du cheptel ovin français .....	15
1.2. Elevage ovin laitier en France.....	16
1.3. L'élevage ovin allaitant en France .....	17
2. Parasitisme des ovins par les strongles gastro-intestinaux .....	18
2.1. Biologie des strongles gastro-intestinaux .....	18
2.2. Epidémiologie des strongyloses gastro-intestinales des ovins.....	19
2.3. Pathogénie des strongles gastro-intestinaux.....	20
3. Indicateurs pour détecter les strongyloses et moyens de lutte traditionnels .....	23
3.1. Evaluation de la charge parasitaire du troupeau .....	23
3.2. Marqueurs indirects d'une infestation .....	24
3.3. Les traitements anthelminthiques.....	25
3.4. Emergence de résistances aux anthelminthiques .....	26
4. Méthodes de lutte alternatives contre les helminthes .....	29
4.1. L'utilisation raisonnée des pâtures.....	29
4.2. Utilisation de prédateurs des larves d'helminthes.....	30
4.3. La vaccination .....	31
4.4. Résistance génétique de l'hôte aux parasites .....	32
4.4.1. Variabilité individuelle de la sensibilité aux strongles .....	32
4.4.2. Choix d'un caractère phénotypique.....	33
4.4.3. Héritabilité du caractère « OPG » .....	34
4.4.4. Infestation naturelle .....	36
4.4.5. Impact sur la zootechnie .....	37
5. Intérêt de l'étude .....	38
SELECTION ET SUIVI DE BREBIS RESISTANTES ET SENSIBLES A HAEMONCHUS CONTORTUS PENDANT TROIS ANS .....	39
1. Matériel et méthodes.....	41
1.1. Sélection des agnelles sensibles et résistantes .....	41
1.1.1. Choix d'agnelles, infestations et prélèvements.....	41

1.1.2.	Analyse statistique et création de l'échantillon .....	43
1.2.	Suivi parasitologique et zootechnique sur trois saisons de pâture .....	43
1.2.1.	Gestion du troupeau au cours de la phase 2.....	43
1.2.2.	Prélèvements et mesures réalisés .....	44
1.2.3.	Analyse statistique.....	45
1.3.	Infestation expérimentale de fin d'étude .....	45
2.	Résultats .....	46
2.1.	Sélection des agnelles sensibles et résistantes .....	46
2.2.	Suivi parasitologique sur trois saisons de pâture .....	48
2.3.	Infestation expérimentale de fin d'étude .....	66
2.4.	Conséquences zootechniques de la sélection .....	68
3.	Discussion .....	72
3.1.	Sélection des agnelles sensibles et résistantes .....	72
3.1.1.	Choix des agnelles et du lieu de l'étude.....	72
3.1.2.	Choix du protocole de sélection .....	73
3.2.	Suivi parasitologique sur trois saisons de pâture .....	75
3.2.1.	Intensités d'excrétion fécale d'œufs de strongles gastro-intestinaux.....	75
3.2.2.	Hématocrite.....	77
3.2.3.	Pepsinogène .....	78
3.3.	Infestation expérimentale de fin d'étude .....	79
3.4.	Conséquences zootechniques .....	81
	Conclusion.....	83
	Agrément scientifique .....	85
	Bibliographie .....	87
	ANNEXES .....	93

## Table des illustrations

Figure 1 : Evolution des effectifs français de brebis entre 1995 et 2013 (d'après Les cahiers de FranceAgriMer, édition de Août 2014) .....	15
Figure 2 : Origine de la viande ovine consommée en France (d'après l'Association Nationale Interprofessionnelle du Bétail et des Viandes, 2014) .....	16
Figure 3 : Cycle des strongles gastro-intestinaux ovins .....	19
Figure 4 : Grille de notation FAMACHA ( d'après Vatta et al. 2001) .....	24
Figure 5 : Echelle de notation du DAG Score, d'après le département de l'agriculture et de l'alimentation d'Australie (2015) .....	25
Figure 6 : Chronologie des infestations expérimentales de 2011 .....	41
Figure 7 : Schéma de la méthode de coproscopie utilisée (d'après Bonnefont et Canellas 2014) .	42
Figure 8 : Distribution des intensités d'excrétion d'oeufs à J28 de la première infestation de la phase de sélection (2011) .....	46
Figure 9 : Distribution des intensités d'excrétion d'oeufs à J28 de la seconde infestation de la phase de sélection (2011) .....	46
Figure 10 : Répartition des agnelles R et S selon la classe d'excrétion d'œufs à J28 de la seconde infestation expérimentale lors de la phase de sélection initiale en 2011 .....	47
Figure 11 : Moyennes des excrétions d'oeufs de strongles digestifs des brebis R et S au pâturage .....	53
Figure 12 : Moyenne des hématocrites des brebis R et S au pâturage .....	58
Figure 13 : Moyenne des dosages de pepsinogène sérique des brebis R et S au pâturage .....	63
Figure 14 : Composition de l'helminthofaune en juillet 2011.....	65
Figure 15 : Composition de l'helminthofaune en octobre 2011 .....	65
Figure 16 : Répartition des brebis R et S selon la classe d'excrétion d'œufs lors de la deuxième infestation expérimentale, en première mesure .....	68
Figure 17 : Répartition des brebis R et S selon la classe d'excrétion d'œufs lors de la deuxième infestation expérimentale, en seconde mesure .....	68
Figure 18 : Températures et précipitations durant les années 2011, 2012 et 2013 à la station météorologique Le Puy - Loudes (d'après Météo France).....	77



# Table des tableaux

Tableau 1 : Répartition des brebis allaitantes sur le territoire français (d'après L'institut de l'élevage, Chiffres clé 2015) .....	17
Tableau 2 : Caractéristiques des principaux strongles gastro-intestinaux rencontrés en France métropolitaine.....	18
Tableau 3 : Héritabilités du caractère de résistance aux strongles gastro-intestinaux pour des populations ovines et caprines (d'après De La Chevrotière et al. 2011) .....	35
Tableau 4 : Moyenne et bornes des intensités d'excrétion d'œufs d'H. contortus dans les deux groupes R et S obtenus par sélection phénotypique .....	47
Tableau 5 : Moyenne, écart-type, médiane, minimum et maximum des hématocrites à l'issue des deux infestations expérimentales de 2011 .....	48
Tableau 6 : Moyenne, écart-type, médiane, minimum et maximum des valeurs d'excrétion fécale à chaque prélèvement, dans chaque groupe .....	50
Tableau 7 : Effet de la sélection sur l'excrétion fécale d'œufs en pâturage naturel par année .....	51
Tableau 8 : Effet de la sélection sur l'excrétion fécale d'œufs en pâturage naturel par mois .....	52
Tableau 9 : Corrélations entre les OPG de prélèvements successifs.....	53
Tableau 10 : Corrélations entre les OPG de différentes années pour un même mois .....	54
Tableau 11 : Moyenne, écart-type, médiane, minimum et maximum des valeurs d'hématocrite à chaque prélèvement, dans chaque groupe.....	55
Tableau 12 : Effet de la sélection sur l'hématocrite en pâturage naturel par année .....	56
Tableau 13 : Effet de la sélection sur l'hématocrite en pâturage naturel par mois .....	57
Tableau 14 : Corrélations entre les hématocrites de prélèvements successifs.....	58
Tableau 15 : Corrélations entre les hématocrites de différentes années .....	59
Tableau 16 : Moyenne, écart-type, médiane, minimum et maximum des valeurs de pepsinogène sérique à chaque prélèvement, dans chaque groupe (en Utyr / mL) .....	60
Tableau 17 : Effet de la sélection sur la pepsinogénémie en pâturage naturel par année (en Utyr / mL) .....	61
Tableau 18 : Effet de la sélection sur la pepsinogénémie en pâturage naturel par mois (en Utyr / mL) .....	62
Tableau 19 : Corrélations entre les pepsinogénémies de prélèvements successifs .....	63
Tableau 20 : Corrélations entre les pepsinogénémies de différentes années .....	64
Tableau 21 : Corrélations entre les OPG et les mesures de pepsinogénémie.....	64
Tableau 22 : Moyenne, écart-type, médiane et bornes des OPG des brebis R et S obtenus lors de la seconde infestation expérimentale.....	67
Tableau 23 : Effet de la sélection sur la prolificité et la fertilité des brebis.....	69
Tableau 24 : Nombre de valeurs utilisées pour les analyses de variance des paramètres zootechniques .....	69
Tableau 25 : Effet de la sélection sur le poids à la naissance et le GMQ à 30 jours .....	70
Tableau 26 : Effet de la sélection sur la durée d'engraissement et le pourcentage de mâles. ....	70
Tableau 27 : Effet de la sélection sur la mortalité et le nombre d'agneaux sevrés par an.....	70
Tableau 28 : Excrétion fécale des animaux divergents au cours de la seconde infestation expérimentale .....	80
Tableau 29 : Schéma de remplissage de la microplaque .....	96



## Table des annexes

Annexe I : Protocole de dosage du pepsinogène sérique d'après Dorny et Vercruysse (1998) ....	95
Annexe II : Préparation des réactifs du protocole de dosage du pepsinogène .....	97



## ***Liste des abréviations***

μL : microlitre

μm : micromètre

ANOVA : ANalysis Of VAriance

AOP : Appellation d'Origine Protégée

BSA : Bovine Serum Albumine

g : gramme

GLM : Generalized Linear Model

GMQ : Gain Moyen Quotidien

Ht : Hématocrite

kg : kilogramme

M : molaire ou mole par litre

mg : milligramme

mL : millilitre

mm : millimètre

nm: nanomètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OPG : Oeuf Par Gramme

OR : Odd Ratio

Pepsi : Pepsinogène

QTL : Quantitative Trait Loci

R : Résistante

S : Sensible

SGI : Strongles Gastro-Intestinaux

UTyr : Unité de Tyrosine



## ***Introduction***

En France, l'agriculture reste un secteur important, spécialement en productions animales. Bien que le cheptel ovin national soit encore un cheptel européen important, il diminue tous les ans depuis maintenant trente ans. Cette diminution est partiellement due aux transformations dans les systèmes et les pratiques d'élevage de ces dernières années.

Les strongyloses gastro-intestinales sont une pathologie fréquente dans l'espèce ovine. Les conséquences sont variables en fonction de la sévérité de l'infestation et peuvent aller de pertes zootechniques à la mort de l'animal. Le traitement anthelminthique est la méthode actuellement la plus utilisée pour lutter contre les strongles. Mais l'utilisation abusive et irraisonnée de ces molécules a entraîné l'apparition de résistances aux anthelminthiques parmi les nématodes. Depuis les années 1950, ces résistances se propagent dans les élevages à tel point que des nématodes sont aujourd'hui multi-résistants.

Ces résistances aux anthelminthiques ont un coût pour l'éleveur. Les médicaments achetés sont inefficaces, les pertes zootechniques perdurent, la résistance se propage dans la population de strongles.

Des alternatives aux anthelminthiques ont donc été recherchées. Les espèces fongiques prédatrices de strongles, la vaccination, l'utilisation raisonnée de pâture et la résistance génétique des moutons aux strongles ont été étudiées. Cette dernière donne des résultats très prometteurs. Les recherches se poursuivent pour vérifier la faisabilité d'une sélection génétique sur le paramètre « Résistance aux strongles gastro-intestinaux ».

Après une brève description de l'élevage ovin en France et de la biologie des strongles gastro-intestinaux, un état des lieux de la résistance aux anthelminthiques, des alternatives aux anthelminthiques ainsi que des résultats obtenus grâce à la sélection de moutons résistants aux strongles seront présentés. Puis, en seconde partie, les résultats de l'étude, menée sur quatre ans, seront décrits. Cette étude s'est intéressée à la sélection d'agnelles selon leur résistance ou sensibilité aux strongles gastro-intestinaux en infestation expérimentale, puis au suivi pendant trois ans en infestation naturelle de leur excréation fécale, hématocrite, pepsinogène sérique ainsi que leurs paramètres zootechniques.



***ETAT DES LIEUX DE LA  
RESISTANCE GENETIQUE DES  
OVINS AUX STRONGLES GASTRO-  
INTESTINAUX***



# 1. L'élevage ovin en France

## 1.1. Situation du cheptel ovin français

Le cheptel ovin français était le sixième cheptel européen en 2014. Avec ses 7.2 millions de têtes, il est en constante diminution depuis plusieurs années déjà.

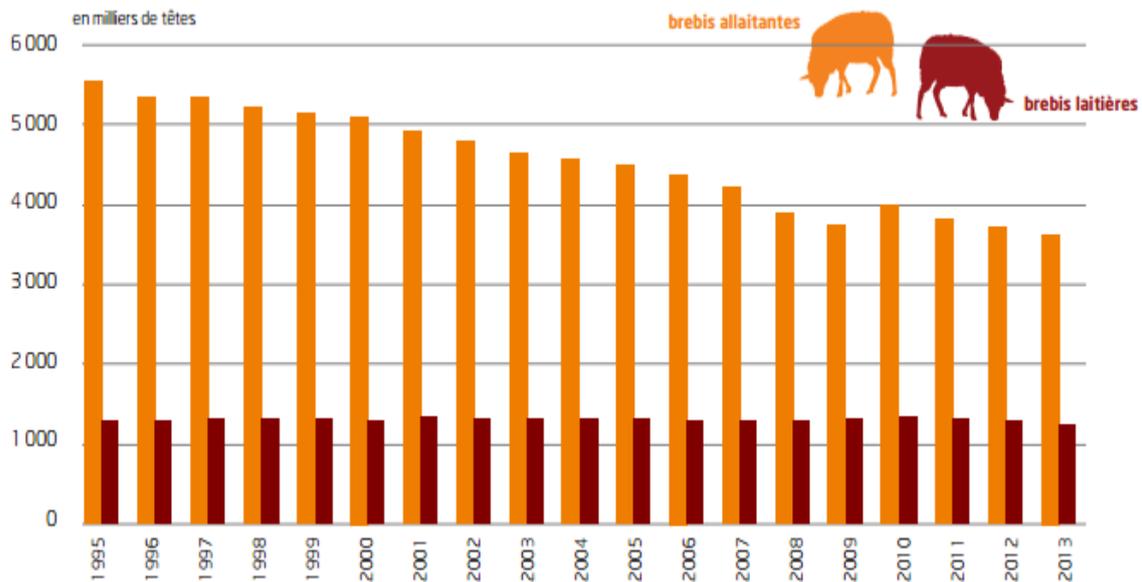
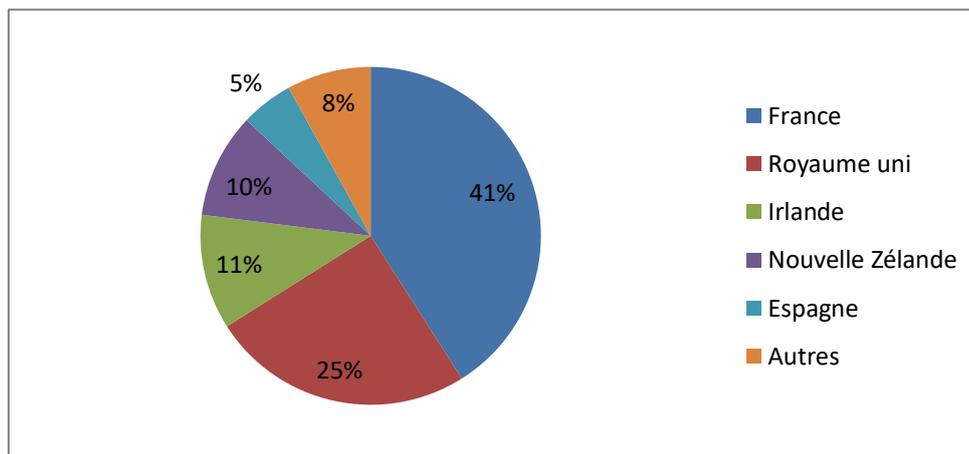


Figure 1 : Evolution des effectifs français de brebis entre 1995 et 2013 (d'après Les cahiers de FranceAgriMer, édition de Août 2014)

L'impact des vingt dernières années a été plus important sur l'élevage allaitant que sur l'élevage ovin laitier dans notre pays. Ceci s'explique par l'apparition de grands exportateurs qui se sont imposés sur le marché comme la Nouvelle-Zélande. La majorité de la viande ovine consommée en France vient de l'étranger (cf Figure 2). D'autres facteurs entrent aussi en compte. En effet, d'après les chiffres clés 2015 publiés par l'institut de l'élevage, 61% des éleveurs d'ovins allaitants ont plus de 50 ans, dont 50% ont plus de 60 ans. Ils possèdent la moitié du cheptel allaitant. En laitier, ces éleveurs quinquagénaires ne représentent que 39% des éleveurs, et ne possèdent que 31% du cheptel. La diminution de la consommation nationale, associée aux fluctuations des cours des céréales et donc au revenu des éleveurs a également favorisé la diminution du cheptel allaitant (Nozières-Petit 2014).



**Figure 2 : Origine de la viande ovine consommée en France (d'après l'Association Nationale Interprofessionnelle du Bétail et des Viandes, 2014)**

L'élevage biologique ovin s'est également développé en France, notamment après le Grenelle de l'environnement. En effet, un des engagements décidés était de « passer en agriculture biologique 6% de la surface agricole utile en 2010, 15% en 2013 et 20% en 2020 ». (*LOI n° 2010-788 du 12 juillet 2010 portant engagement national pour l'environnement 2010*). 1.66% du cheptel ovin viande est en agriculture biologique avec une progression de 10% entre 2012 et 2013 (Association Nationale Interprofessionnelle du Bétail et des Viandes, 2014).

## ***1.2. Elevage ovin laitier en France***

En 2014, les 1 575 milliers de brebis laitières saillies sont réparties dans 4774 exploitations. En 2010, 64% du cheptel était réuni dans des exploitations de moyenne à grande taille (200 à 499 brebis), 19% dans des élevages de 500 à 999 brebis et 12% dans des élevages de 100 à 199 têtes.

La répartition géographique du cheptel est concentrée dans le sud-ouest. 52% se trouvent dans la région Midi-Pyrénées, 32% en Aquitaine et 7% dans le Languedoc-Roussillon. On retrouve ici les deux principaux bassins laitiers ovins français que sont le bassin de Roquefort et les Pyrénées-Atlantiques. On note également un bassin plus modeste en Corse avec 6% du cheptel ovin laitier.

La production laitière récoltée pour la campagne 2013/2014 était de 257.5 millions de litres de lait. Dans le rayon de Roquefort, 161.6 millions de litres ont été pour une large majorité produits par des brebis de race Lacaune et transformés en AOP Roquefort. Le surplus de lait est valorisé sous d'autres formes (Bleu, brousse, pérail, tomme ...). Dans les Pyrénées-Atlantiques, 58 millions de litres ont été récoltés principalement chez des brebis de races Manech Tête Noire, Basco-Béarnaise et

Manech Tête Rousse, et valorisés principalement en AOP Ossau-Iraty. Enfin, dans le bassin corse, les brebis de race Corse ont produit 5.8 millions de litres, transformés en partie en AOP Brocciu.

### **1.3. L'élevage ovin allaitant en France**

Le cheptel ovin allaitant est composé de 3.9 millions de brebis allaitantes, qui permettent une production de 80 000 tonnes équivalent carcasse en 2014. Le rendement à l'abattage est environ de 50%. Cette production couvre 45% de la consommation nationale. Le reste provient pour moitié du Royaume uni, ou encore d'Irlande, Nouvelle-Zélande ...

La répartition de ce cheptel se fait de manière plus disparate sur le territoire français, même si on note que la majorité des élevages se trouve dans la moitié sud du pays.

**Tableau 1 : Répartition des brebis allaitantes sur le territoire français (d'après L'institut de l'élevage, Chiffres clé 2015)**

<b>Brebis et agnelles saillies allaitantes</b>		
<b>Régions</b>	<b>1 000 têtes</b>	<b>% France</b>
Midi-Pyrénées	664	17 %
PACA	549	14 %
Poitou-Charentes	429	11 %
Auvergne	358	9 %
Limousin	344	9 %
Rhône-Alpes	281	7 %

En plus des pressions sociales et financières, l'élevage ovin est soumis à une pression pathologique importante. Il a traversé d'importantes crises comme la fièvre aphteuse au Royaume-Uni en 2001, ou plus récemment la crise de la Fièvre Catarrhale Ovine en 2007 avec une recrudescence en 2015. En dehors de ces épizooties, des pathologies moins dramatiques sont présentes mais coutent beaucoup d'argent aux éleveurs au jour le jour. C'est le cas par exemple du parasitisme par les strongles gastro-intestinaux.

## 2. Parasitisme des ovins par les strongles gastro-intestinaux

### 2.1. Biologie des strongles gastro-intestinaux

Les strongles gastro-intestinaux (SGI) sont des Nématodes appartenant à l'Ordre des Strongylida, Super-Famille des Trichostrongyloidea, Famille des Trichostrongylidae.

Les ovins sont une espèce très sensible au parasitisme, ils sont fréquemment polyparasités. Les espèces les plus fréquemment retrouvées dans le tube digestif des ovins sont *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus colubriformis* et *Hæmonchus contortus*. En fonction du climat (température, humidité, altitude, ...) les espèces retrouvées ne sont pas les mêmes. En France, *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis* sont les espèces majoritaires. *Hæmonchus contortus*, *Nematodirus battus* et *Cooperia curticei* peuvent aussi être isolés, bien que leur fréquence soit plus variable en France.

Le tableau 2 présente les différentes espèces retrouvées en France, leur fréquence ainsi que leur régime alimentaire.

Tableau 2 : Caractéristiques des principaux strongles gastro-intestinaux rencontrés en France métropolitaine.

Localisation	Nom	Alimentation	Pouvoir pathogène	Fréquence
Caillette	<i>Hæmonchus contortus</i>	Hématophage	+++	Très variable d'une exploitation à l'autre
	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	Histophage et hématophage	++	Importante
	<i>Trichostrongylus axei</i>	Histophage	++	Moyenne
Intestin grêle	<i>Cooperia curticei</i>	Chymivore	+	Moyenne
	<i>Nematodirus battus</i>		+++ (agneaux)	Moyenne
	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>		++	Importante
Gros intestin	<i>Chabertia ovina</i>	Histophage	+	Faible
	<i>Oesophagostomum venusolum</i>	Chymivore	+	Faible

Le cycle biologique des SGI est monoxène. On distingue une phase de vie libre dans le milieu extérieur et une phase de vie parasitaire. La période prépatente est de trois semaines environ. La femelle adulte va pondre des œufs qui sont excrétés dans le milieu extérieur *via* les fèces. Le développement des œufs en larves L3 infestantes prend entre 8 et 30 jours en fonction des espèces et des conditions climatiques et se fait au sein des fèces. Après l'éclosion, la larve L1 mue en L2 qui mue en L3 mais tout en restant dans l'exuvie de la larve L2. Ceci lui permet une adaptation à des conditions climatiques rudes et une survie de plusieurs semaines à plusieurs mois sur le pâturage. Puis la larve L3 va migrer à distance des fèces et sortir du « cercle de répugnance » où elle sera avalée alors que le mouton broute. Les larves vont alors continuer leur cycle en L4 puis en un stade immature avant de devenir adulte et pouvoir se reproduire (Sutherland et Scott 2009).

Un autre mécanisme de survie des larves pendant la période non favorable à leur développement (l'hiver en zone tempérée) est l'hypobiose. Les larves L4 vont s'enkyster dans les glandes de la caillette et reprendre leur développement au printemps. *Hæmonchus* et *Teladorsagia* sont deux genres qui présentent ce phénomène (Sutherland et Scott 2009).

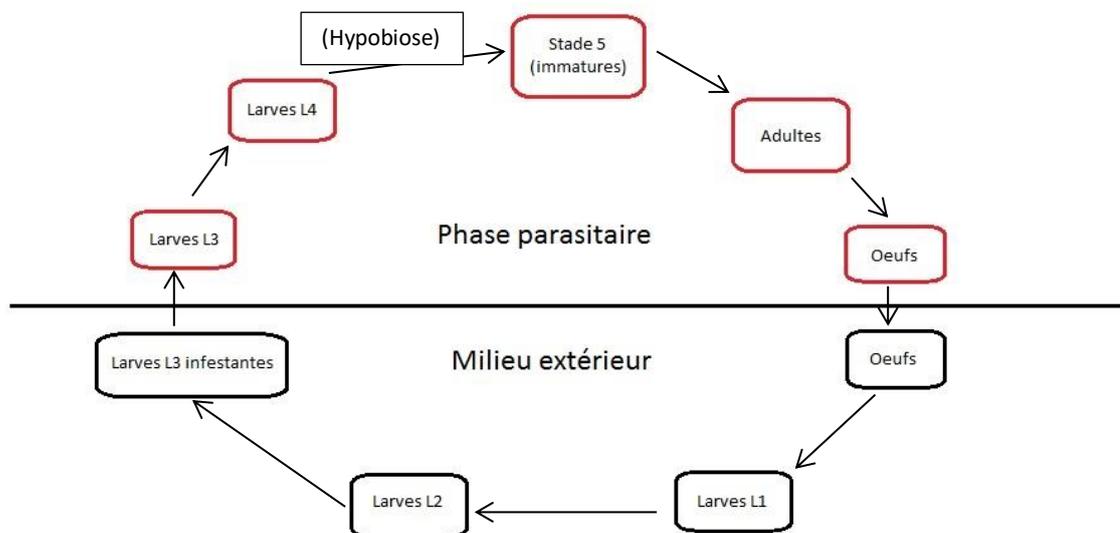


Figure 3 : Cycle des strongles gastro-intestinaux ovins

## 2.2. *Epidémiologie des strongyloses gastro-intestinales des ovins*

L'animal se contamine en ingérant des larves L3 qui ont migré à distance des bouses, hors du « cercle de répugnance ». Cette infestation se fait dès la mise à l'herbe, soit par les larves qui sont

déjà sur la pâture, soit celles qui viennent d'œufs excrétés par les animaux contaminés de la parcelle (Sutherland et Scott 2009).

En fonction de la quantité de larves ingérées, la charge parasitaire de l'animal peut changer. Mais d'autres paramètres entrent en compte et la sensibilité aux strongles n'est pas la même pour chaque individu. La charge parasitaire dépend de :

- La race : certaines races sont plus résistantes que d'autres comme la Gulf Coast Native, la Barbados Black Belly, ou plus généralement les races de moutons à poils. Ces races ont rencontré certains parasites, notamment *Hæmonchus contortus*, depuis des siècles, et ont donc pu s'y adapter (Miller et al. 1998; Gruner et al. 2003).
- La génétique : des études montrent qu'au sein d'une même race, dans des conditions similaires, la charge parasitaire est différente chez deux individus. Cette différence est due en partie à une résistance génétique accrue de l'hôte. Ce point sera développé plus longuement dans la partie 4.4. (Woolaston et al. 1990; Gruner et al. 2004a).
- L'âge : l'immunité contre les SGI est tardive. Elle n'est complètement acquise qu'à partir de 5-7 mois et n'est complètement efficace qu'après une longue exposition aux parasites (Sutherland et Scott 2009).
- Le statut physiologique : en *peri-partum*, les brebis sont plus sensibles aux parasites. Cette période coïncide avec un pic d'IgA anti-nématode dans le plasma. L'hypothèse retenue est que les IgA sont transportés des muqueuses digestives vers le lait pour former le colostrum. Les muqueuses sont alors moins protégées, et la charge parasitaire augmente. L'excrétion fécale est alors plus importante. On parle de *periparturient rise* (Jeffcoate et al. 1992; Sutherland et Scott 2009).
- Les conditions d'élevage : qualité de l'alimentation, stress auquel sont soumis les animaux, etc (Gray 1997).

### **2.3. Pathogénie des strongles gastro-intestinaux**

La pathogénie des SGI est très dépendante de l'espèce de nématode. Elle est la somme des effets directs et indirects de ces parasites sur l'organisme de l'hôte. Une strongylose gastro-intestinale entraîne une réduction de la prise alimentaire, un détournement des nutriments, et peut induire une spoliation de l'animal et une malabsorption intestinale.

Dans la caillette, le pH normal est compris entre 2 et 3. Il est dû à la sécrétion d'ions HCl par les cellules de la muqueuse. Ce pH permet notamment la conversion d'un zymogène, le pepsinogène, dans sa version active, à savoir la pepsine, qui n'est possible qu'en milieu acide. Le pepsinogène est

quant à lui sécrété par des cellules situées dans des glandes de la muqueuse. Lorsque la caillette est infestée par *Haemonchus* ou *Teladorsagia*, les larves migrent dans les glandes de la muqueuse pour s'y développer et les adultes se fixent à la muqueuse. Il en résulte une altération des cellules pariétales qui sécrètent moins de HCl. Le pH abomasal augmente alors pour se rapprocher de la neutralité. Le pepsinogène n'est alors plus converti en pepsine et s'accumule dans la caillette. La paroi de la caillette n'étant plus saine, le pepsinogène fuit dans le secteur sanguin, d'où un taux de pepsinogène sérique augmenté lors d'infestation. Ces fuites protéiques ont aussi lieu du secteur vasculaire vers la lumière digestive, notamment pour l'albumine (Sutherland et Scott 2009).

Dans l'intestin grêle, les parasites se développent principalement dans le duodénum et la portion proximale du jéjunum. L'abrasion des microvillosités par les parasites peut entraîner une malabsorption et une fuite de protéines. Une hyperplasie de la muqueuse est également présente, due à une infiltration par les cellules inflammatoires et immunitaires (Sutherland et Scott 2009).

Dans le colon et le cæcum, une réaction inflammatoire peut se mettre en place, plus ou moins sévère selon le parasite, *Chabertia ovina* étant un des plus délabrant à cette localisation.

Toutes ces lésions vont entraîner un mal-être pour l'animal qui va réduire sa prise alimentaire. Plus l'animal est parasité, plus l'anorexie sera marquée. Compte tenu des modifications de sécrétion d'enzymes, l'utilisation de l'énergie et des nutriments n'est plus optimale. De même, l'abrasion des villosités et la fuite protéique vont être responsables de diarrhées, l'un des principaux signes cliniques de parasitose gastro intestinale (Sutherland et Scott 2009).

La réparation de ces lésions et la compensation des pertes protéiques sont prioritaires sur le développement des muscles striés et la production de laine et de lait, ce qui représente une perte pour l'éleveur (Hoste et al. 1997). Une méta-analyse de Mavrot publiée en 2015 portant sur 85 études précise l'importance de ces pertes. Les pertes en lait, en gain moyen quotidien (GMQ) et en laine sont estimées respectivement à 22%, 15% et 10%. Une comparaison entre des groupes de moutons infestés ou non par des parasites montre que dans 58% des études, un effet négatif significatif des parasites est noté. Cependant, de nombreuses études comportent des effectifs limités, expliquant une possible sous-estimation (Mavrot et al. 2015).

L'animal perd également du sang. Il existe deux modalités :

- Perte sanguine directe par des parasites hématophages comme *H. contortus*.
- Certaines molécules excrétées/sécrétées par les parasites, faites pour assurer la digestion des tissus intestinaux, ont une activité anti-coagulante. Lorsque le parasite se

décroche, la muqueuse continue donc de saigner. Les animaux perdent plus de sang *via* ce mécanisme que par ingestion par des parasites.

Chez l'adulte, le système immunitaire permet une infestation subclinique qui se traduit par des pertes de production uniquement (Hoste et al. 1997).

Mais en cas d'infestation massive en un court laps de temps, ou chez le jeune, l'expression clinique peut être aiguë à suraiguë. Les signes cliniques dépendent alors du parasite majoritaire :

- Lors d'hæmonchose, on observe un syndrome anémique associé à un amaigrissement et dans les cas très sévères, des œdèmes en régions déclives.
- Lors d'infestation par d'autres strongles, on observe une dysorexie et une diarrhée, causant déshydratation et amaigrissement.

### ***3. Indicateurs pour détecter les strongyloses et moyens de lutte traditionnels***

#### ***3.1. Evaluation de la charge parasitaire du troupeau***

Au niveau du troupeau, il est possible d'établir des facteurs de risque en fonction de la conduite d'élevage, de l'alimentation et du climat. Mais un animal ne répond pas de la même façon qu'un autre à une infestation. Pour connaître le statut parasitaire du troupeau, il faudra également passer par des examens cliniques et complémentaires sur les animaux. Les examens complémentaires permettant un diagnostic de strongylose sont les suivants :

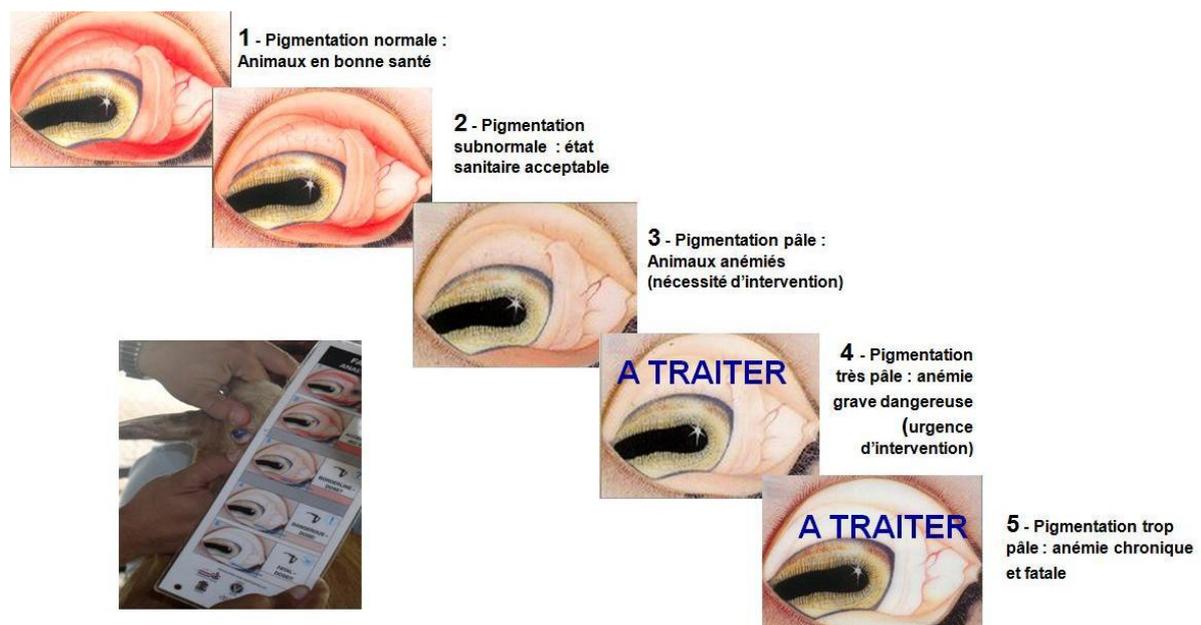
- Coproscopie : l'observation d'œufs dans les matières fécales permet de poser un diagnostic mais reste une évaluation indirecte de la charge parasitaire car le nombre d'œufs dépend du nombre d'adultes et de leur fécondité. Il existe plusieurs méthodes. La méthode par flottaison est qualitative et consiste à faire flotter les œufs dans un liquide dense et les récupérer sur lamelle pour observation au microscope. Une autre méthode par dilution et comptage sur des lames graduées (comme la lame de MacMaster) permet d'obtenir un nombre d'œufs par gramme de matière fécale. Le principal inconvénient de cette méthode est le temps nécessaire, même pour un opérateur expérimenté, pour la réaliser. L'autre problème est qu'il est impossible de distinguer l'espèce de nématode au stade d'œuf (excepté *Nematodirus sp.*). Or, tous les parasites n'ont pas le même pouvoir pathogène. Définir une valeur seuil est donc impossible de manière absolue (Dorchies et al. 2003). Il est donc également important de connaître les espèces présentes. Cependant, en pratique, il est fréquent de dire qu'un traitement est nécessaire au-dessus de 500 œufs par gramme de matière fécale (McKenna 1987a; McKenna et Simpson 1987b).
- Coproculture : au stade L3, il est possible de distinguer les différentes espèces. On laisse à 25°C les matières fécales dans un milieu humide pendant 2 semaines, et après filtration, on observe les larves au microscope. Là encore, beaucoup de temps est nécessaire à cette manipulation.
- Comptage direct dans le tube digestif : réalisé lors d'examens *post-mortem*, il est le seul moyen de quantifier précisément la charge parasitaire.

Il est également possible de réaliser des prélèvements dans les pâtures pour évaluer la charge parasitaire de l'herbe ingérée mais ce procédé est très long, très coûteux et ne prend pas en compte encore une fois, le facteur individuel de la réponse à l'infestation.

### 3.2. Marqueurs indirects d'une infestation

D'autres moyens ont été développés pour permettre de détecter, avec moins de précision, si le troupeau était infesté.

Le système FAMACHA est un indicateur clinique bien connu. Il est basé sur la couleur de la muqueuse oculaire. En fonction de la couleur, on estime le degré d'anémie de l'animal, et supposant l'anémie due à un parasite hématophage comme *Hæmoncus contortus*, on en déduit la nécessité de traiter ou non les animaux individuellement. Ce système a montré une sensibilité d'environ 80% en Afrique du Sud (où il a été développé sur des chèvres et où *H. contortus* est le parasite principal) mais une spécificité de 55% montrant que de nombreux animaux nécessitant un traitement ne seront pas traités (Vatta et al. 2001). En Suisse, en élevage caprin, le score FAMACHA est très corrélé avec l'hématocrite et significativement corrélé aux excréments fécaux qu'en juin dans une étude de Scheuerle. Avec l'hématocrite comme Gold Standard pour détecter une anémie, la sensibilité était de 93%. L'auteur conclue que cet indicateur doit être utilisé en combinaison avec d'autres pour un meilleur diagnostic (Scheuerle et al. 2010).



D'autres indicateurs cliniques ont été étudiés. Citons par exemple le DAG score ou score de souillure du train arrière, qui est utilisé comme marqueur des diarrhées en cours ou passées. Là encore, le postulat posé est que la diarrhée est due aux parasites. Dans une étude canadienne, le coefficient de corrélation entre le DAG score et l'excrétion fécale d'œufs est de 0.086. L'auteur conclut que le DAG score n'est pas un bon indicateur de charge parasitaire (Mederos et al. 2014).

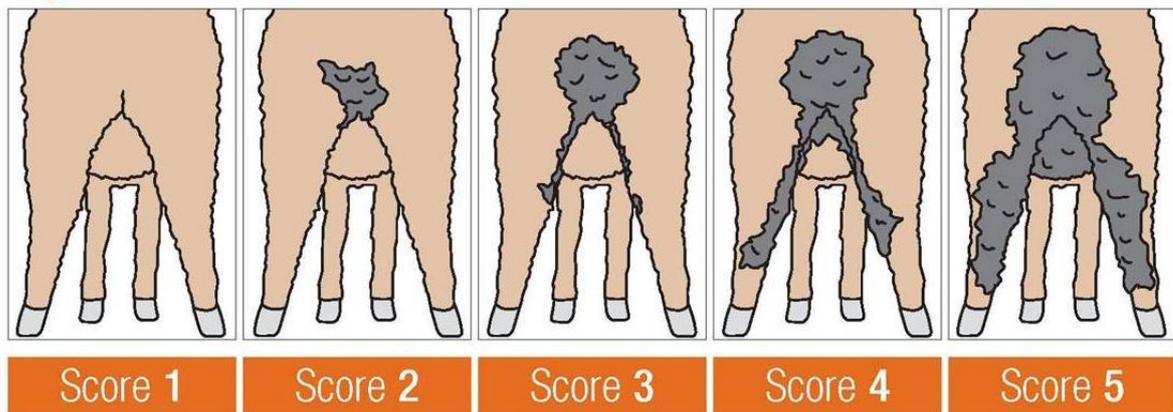


Figure 5 : Echelle de notation du DAG Score, d'après le département de l'agriculture et de l'alimentation d'Australie (2015)

Des marqueurs biochimiques peuvent aussi être utilisés. Par exemple, le dosage du pepsinogène sanguin permet d'évaluer de manière indirecte la charge parasitaire de la caillette. En effet, les larves migrant dans la muqueuse gastrique et les adultes s'y fixant, ils créent des lésions qui permettent la fuite du pepsinogène dans le secteur sanguin. De plus, comme vu précédemment, le pH gastrique augmente et le pepsinogène n'est plus métabolisé en pepsine lors de parasitose gastrique. Enfin, il semblerait qu'une sécrétion de pepsinogène directement dans le secteur sanguin soit possible lorsque le pH gastrique augmente. Ainsi, une augmentation de la pepsinogénémie peut traduire une infestation parasitaire (Kerboeuf 1977; Sutherland et Scott 2009).

### 3.3. Les traitements anthelminthiques

La méthode de lutte la plus répandue est le traitement chimique des animaux à l'aide de molécules anthelminthiques. Les molécules à disposition des éleveurs appartiennent à cinq familles :

- Benzimidazoles et pro-benzimidazoles : albendazole, fenbendazole, mébendazole, nébimébin et oxfendazole. Ils altèrent le cytosquelette parasitaire en bloquant la polymérisation des microtubules.
- Lactones macrocycliques : ivermectine, éprinomectine, abamectine, doramectine et moxidectine. Ils perturbent la neurophysiologie des parasites *via* une action GABA mimétique ainsi qu'une action sur le fonctionnement des canaux chlorures à l'origine d'une hyperpolarisation des cellules nerveuses du parasite.
- Imidazothiazoles : lévamisole. Cet agoniste nicotinique provoque chez les parasites une paralysie spastique qui conduit à leur mort ou, tout du moins, facilite leur expulsion du tube digestif.

- Dérivés d'aminocétonitrile : monepantel. Il s'agit également d'un agoniste nicotinique, agissant sur un sous-récepteur spécifique aux Nématodes et différent des récepteurs au lévamisole. Il n'est plus commercialisé en France.
- Salicylanilides : closantel. Il agit en découplant la phosphorylation oxydative au niveau des mitochondries des parasites. Il a une action contre les parasites hématophages comme *H. contortus*.

Selon des recommandations déjà un peu anciennes, les éleveurs devraient traiter à trois moments dits stratégiques: « à la mise à l'herbe, à la mi-saison et à l'entrée hivernale » (Dorchies et al. 2003) et, dans la pratique, c'est ce qui est encore réalisé dans de nombreuses exploitations. L'ensemble du lot, voire du troupeau est traité en même temps. Or, au sein d'un troupeau, certains animaux ne nécessitent pas de traitement quand d'autres en ont besoin. Très peu d'éleveurs réalisent des examens complémentaires avant d'effectuer un traitement. Les habitudes sont très ancrées chez les éleveurs comme dans la profession vétérinaire. On trouve des plans de vermifugation prêts à l'emploi sur internet, qui ne tiennent pas compte des particularités de chaque élevage. Il est également à noter que des éleveurs traitent les populations à risque (notamment les jeunes) plusieurs fois par saison, pouvant atteindre dans les cas extrêmes 6 traitements par an. Ces mauvaises pratiques ont sans doute contribué à l'apparition de résistances aux anthelminthiques.

### ***3.4. Emergence de résistances aux anthelminthiques***

L'utilisation importante et irraisonnée d'anthelminthiques a entraîné l'apparition de résistances chez les parasites. D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), une population chimiorésistante est une population de parasites ayant génétiquement acquis la capacité de résister à des concentrations d'antiparasitaires habituellement létales pour des individus de cette espèce.

La première résistance aux anthelminthiques est rapportée dans les années 1950 chez un isolat de l'espèce *H. contortus* résistant à la phénothiazine (Drudge et al. 1957). Aujourd'hui, au moins un cas de résistance à chacune des classes d'anthelminthiques a été rapporté, bien que la résistance aux benzimidazoles soit la plus fréquente. Le parasite peut être résistant à une molécule, une famille de molécules ou plus rarement à plusieurs familles. Ce phénomène évolutif résulte d'une mutation préexistante au sein de l'espèce et transmise de manière héréditaire. Une pression de sélection (comme l'utilisation fréquente d'un anthelminthique) va en favoriser la propagation. En effet, les individus sensibles vont mourir pour laisser la place aux vers résistants. Ces derniers se reproduisant, diffusent leurs gènes de chimiorésistance aux générations suivantes (Kaplan 2004; Sicard 2010).

Pour lutter contre l'apparition de résistances à une famille d'anthelminthiques, des combinaisons de familles ont été étudiées. Certains prérequis sont nécessaires pour que cette méthode soit efficace. Le plus important est qu'il existe des « refuges », c'est-à-dire des animaux non traités pour que des souches non résistantes d'helminthes perdurent dans les exploitations et « diluent » les populations résistantes. L'utilisation de combinaisons est cependant une option qui n'arrête pas l'apparition de résistances mais qui la ralentit (Bartram et al. 2012).

Des facteurs de risque d'apparition de résistance ont été mis en évidence. La mise en place d'une population chimiorésistante majoritaire est d'autant plus rapide que la pression de sélection est forte, donc d'autant plus rapide que l'utilisation de l'anthelminthique est massive et fréquente (odds ratio (OR) = 4.39). Le traitement de troupeau avant un changement de pâture (principe du « Treat and Move ») est également un facteur de risque important avec un OR de 4.08. D'autres facteurs, avec des OR plus modestes ont été mis en évidence, à savoir la taille de troupeau, le pâturage alterné inter-espèce et l'utilisation de formules anthelminthiques longue action. Les OR sont respectivement de 1.02, 1.63 et 2.85 (Falzon et al. 2014).

En France aussi le problème est préoccupant. En 1998, sur 23 exploitations ovines, 83% des élevages présentaient des résistances aux benzimidazoles, et 50% au lévamisole. *Teladorsagia* et *Trichostrongylus* étaient les parasites principalement représentés. Aucune résistance à l'ivermectine n'était rapportée (Chartier et al. 1998). Quinze ans plus tard, sur 10 fermes testées, des résistances au nétopimim et au fenbendazole ont été mises en évidence dans 100% des élevages. Les parasites incriminés étaient dans la majorité des cas *Teladorsagia* et *Haemonchus*. Il semblerait qu'un traitement par voie orale avec de la moxidectine ou de l'ivermectine soit efficace, même dans les fermes avec présence de parasites résistants aux benzimidazoles ou au lévamisole (Geurden et al. 2014). De même, en élevage caprin, très touché par les résistances aux anthelminthiques, aucun des 22 élevages testés n'a montré de signes de résistance à un traitement à base d'ivermectine (Paraud et al. 2010). Les départements outre-mer sont très atteints par le problème également. En élevage caprin, des résistances aux anthelminthiques ont été trouvées pour le nétopimim, l'ivermectine et le lévamisole respectivement dans 100%, 82% et 78% des élevages dans lesquels elles ont été recherchées. La moxidectine, dernière milbémycine commercialisée, présente une diminution d'efficacité dans 22% des élevages dépistés (Mahieu et al. 2014). Plus récemment, un élevage français de moutons destinés à la boucherie a participé à une étude dans le cadre d'une suspicion de résistance aux anthelminthiques. Il a été démontré qu'un traitement à l'ivermectine n'avait pas réduit l'excrétion fécale d'œufs et qu'un traitement à la moxidectine n'avait permis une réduction que de 13% de l'excrétion d'œufs. Le parasite incriminé était *Teladorsagia circumcincta*, les autres

strongles gastro-intestinaux étant sensibles aux deux traitements. Il s'agit du premier élevage ovin présentant une résistance à deux molécules anthelminthiques chez des strongles gastro-intestinaux en France métropolitaine (Paraud et al. 2016).

En plus de l'aspect médical, la résistance aux anthelminthiques pose un vrai problème financier pour les éleveurs. Tout d'abord, il y a la perte directe due à l'achat d'un médicament qui ne permet pas d'éliminer efficacement le problème sur l'élevage. Une étude néozélandaise a travaillé sur les différences en termes de production sur un élevage avec un traitement efficace, et un autre réduisant de moins de 50% l'excrétion fécale d'œufs. Il a été enregistré une diminution de 35% du poids vif des animaux, avec un retard de 17 jours pour que 50% des animaux hébergeant des parasites résistants atteignent 38kg, comparativement aux autres. Ceci s'est reporté sur le poids carcasse, plus faible de 20%, et le prix de la carcasse perdant 11 NZ\$, soit 10% (Miller et al. 2012).

Les éleveurs sont donc aussi très concernés par cette problématique, de plus en plus préoccupante. D'autres méthodes de contrôle des strongles gastro-intestinaux ont été recherchées pour pallier au problème.

## **4. Méthodes de lutte alternatives contre les helminthes**

De nombreuses recherches sont en cours pour réussir, si ce n'est à se passer, tout du moins à diminuer la fréquence des traitements anthelminthiques.

### **4.1. L'utilisation raisonnée des pâtures**

Le principe est de gérer les pâtures et le troupeau pour minimiser le contact entre les larves infestantes et les moutons. Pour se faire, il suffirait de laisser la pâture sans animal le temps que les larves infestantes meurent. Mais comme vu précédemment, ces larves peuvent résister plusieurs mois dans le milieu extérieur si les conditions climatiques le permettent (ce qui est généralement le cas sous nos latitudes).

Certaines mesures recommandées, comme le « Treat and Move » qui consiste à déplacer les animaux sur des parcelles saines après traitement, sont pertinentes en l'absence de résistances, mais peuvent favoriser une contamination exclusive des parcelles avec des souches résistantes dans le cas contraire. Il est même prouvé que cette pratique est associée à l'apparition de souches résistantes avec un OR égal à 4.08 (Falzon et al. 2014).

Un axe de recherche s'est concentré sur le « cross-grazing ». L'idée repose sur le fait que les parasites d'une espèce ne se développent pas chez une autre, et donc en alternant les espèces sur une pâture, il est possible de l'assainir plus rapidement.

Des études ont été menées à l'université de Massey (Nouvelle Zélande). Une alternance de pâturages ovins, bovins et cervidés a été étudiée. Le cervidé étudié était le cerf élaphe (*Cervus elaphus*). Quatre groupes sont suivis : des cerfs vermifugés systématiquement (contrôle positif), des cerfs non vermifugés systématiquement (contrôle négatif), des cerfs pâturant avec des vaches de manière alternée et des cerfs pâturant avec des moutons. Les vermifuges étaient administrés lorsque le GMQ des animaux diminuait de 20% en comparaison de celui du contrôle positif. Les cerfs pâturant avec les vaches ont reçu 2.8 traitements par an contre 3.4 pour les deux autres groupes. 50% des animaux de ce groupe étaient traités 50 jours après la mise à l'herbe contre 30 pour les autres groupes (Tapia-Escarate et al. 2014).

En Guadeloupe, des études similaires se sont intéressées à un pâturage alterné caprin – bovin. Quatre groupes de six parcelles ont été pâturées. Chaque parcelle était pâturée par une densité de caprins (chèvre créole juste sevrée) différente pendant 4 mois, 100% représentant le groupe contrôle, puis les groupes 75% (G75), 50% (G50) et 25% (G25) ont été ajustés en augmentant la taille des parcelles. Après une semaine, les animaux étaient déplacés sur une nouvelle parcelle. Au bout de

six semaines, les animaux étaient replacés sur la première parcelle. Un groupe de bovins suivait les groupes G75, G50 et G25 en pâturant une semaine après le départ de ces derniers. Les résultats montrent qu'avec un pâturage alterné et une densité plus faible d'animaux, l'intensité de l'excrétion fécale d'œufs est significativement plus faible lorsque la densité diminue. De même les taux de mortalité sont divisés par deux dans le groupe G25, comparé au groupe contrôle. Enfin, le GMQ des animaux, de 32 g/j chez le groupe contrôle et G75, augmente significativement à 43 g/j et 51 g/j dans les groupes G50 et G75 (Mahieu 2013).

Cependant, d'autres études tendent à montrer que cette pratique pourrait être un facteur de risque concernant l'apparition de résistance aux anthelminthiques, avec un OR de 1.63 (Falzon et al. 2014).

Il est à noter que les spécificités d'hôtes des parasites ne sont pas strictes. En effet, il est démontré par exemple que des parasites ovins peuvent faire leur cycle chez le cerf élaphe. C'est le cas de *Haemonchus contortus*, de *Trichostrongylus axei* et d'*Oesophagostomum venulosum* (Tapia-Escarate et al. 2014).

#### **4.2. Utilisation de prédateurs des larves d'helminthes**

Plus de 50 espèces de champignons sont capables de capturer et détruire les larves de nématodes sur les pâturages (Siddiqui et al. 1996). Parmi ceux-ci, *Duddingtonia flagrans* est probablement l'espèce sur laquelle se sont concentrées la majorité des études. Les filaments mycéliens issus des spores sont capables d'immobiliser ou d'envahir les larves de strongles dans les matières fécales. Il est prouvé, pour *D. flagrans*, qu'un passage dans le tractus digestif des ovins n'affecte pas leur pouvoir pathogène contre les strongles (Larsen et al. 1998). Cela signifie qu'une ingestion de spores n'entraînera pas leur dégradation dans le rumen et la caillette. Ces spores pourront donc germer dans les matières fécales des animaux traités et atteindre les larves de strongles. Dans l'espèce ovine, Larsen et al. (1998) ont constaté une réduction de plus de 80% du nombre de larves infestantes dans les matières fécales d'ovins expérimentalement infestés avec plusieurs espèces de nématodes et recevant par voie orale des spores de *D. flagrans*. D'autres espèces comme *Arthrobotrys cladodes var. macroides* ou *Monacrosporium eudermatum* ont été testées pour leur propriétés larvicides, qui sont équivalentes à celles de *D. flagrans* (Mendoza-De Gives et Vazquez-Prats 1994; Eslami et al. 2005).

### 4.3. La vaccination

Depuis de nombreuses années, la vaccination a été étudiée comme une alternative à l'utilisation d'anthelminthiques. Pour que le bénéfice d'un programme vaccinal puisse être comparable à une chimiothérapie efficace et réfléchie, il faudrait que le vaccin réduise dans 80% de la population, 80% de l'excrétion d'œufs (Jacquet 2012).

Chez les ovins, les recherches de vaccins se sont concentrées sur *H. contortus*. Il existe deux types d'antigènes pouvant être utilisés pour développer un vaccin : les antigènes naturels, et les antigènes cachés qui ne sont pas naturellement exposés au système immunitaire (comme des glycoprotéines de la barrière épithéliale du tube digestif). Pour ce qui est des antigènes naturels, il est possible d'obtenir un niveau de protection élevé chez les ovins en administrant deux protéines excrétées par *H. contortus*. Ces protéines sont obtenues par chromatographie des produits d'excrétion/sécrétion du parasite. Mais il n'a pas été possible de protéger efficacement les agneaux avec cette méthode. De plus, toute tentative d'immunisation avec des versions recombinantes ont échouées. L'hypothèse admise aujourd'hui sur l'échec de vaccination par des versions recombinantes de protéines est qu'il existe des défauts de glycosylation ou de conformation tertiaire des protéines recombinantes exprimées dans les systèmes bactérien ou viral (Jacquet 2012).

Deux antigènes cachés ont également été beaucoup étudiés. Il s'agit d'une famille d'aminopeptidases de la bordure en brosse de l'épithélium intestinal (H11) et d'un complexe de métallo-protéases et de cystéines protéases (H-Gal-GP). Administrés seuls, sous forme native, ils permettent une réduction de 80% de l'intensité d'excrétion d'œufs et de 50% du nombre de vers installés. La combinaison des deux antigènes permet d'accroître ces taux. L'immunisation de très jeunes animaux est possible avec cette méthode. En revanche, les antigènes immunisants étant cachés, les infestations naturelles ne permettent pas d'améliorer la protection. Des rappels fréquents sont nécessaires. Il n'existe pas de protection croisée avec d'autres strongles, comme *Teladorsagia circumcincta* ou *Trichostrongylus colubriformis*, sûrement du fait de l'alimentation non hématophage de ces parasites, les anticorps visant des antigènes présents dans le tube digestif des parasites. Là encore, de nombreux essais avec des versions recombinantes de ces protéines n'ont pas permis d'immunisation suffisante pour une protection au pâturage (Jacquet 2012).

Une étude mentionne tout de même qu'une diminution de 80% de l'excrétion fécale a été possible suite à la vaccination avec une version recombinante d'une protéine somatique (rHc23) issue d'un système bactérien (*Escherichia coli* BL21), permettant d'espérer l'arrivée de vaccins contenant des protéines recombinantes prochainement sur le marché (Fawzi et al. 2015).

Un vaccin, BarberVax ND, actuellement utilisé en Océanie utilise les deux antigènes cachés H11 et H-Gal-GP, sous une forme native (c'est-à-dire non recombinante). Le protocole vaccinal est lourd avec trois injections espacées de 3-4 semaines, puis une injection toutes les 6 semaines pendant la période à risque. L'année suivante, des injections toutes les six semaines pendant la période à risque suffisent (Moredun Research Institute [en ligne]).

Cependant, ce vaccin n'est pas commercialisé en France. Les méthodes précédemment citées sont insuffisantes ou impossible à réaliser aujourd'hui pour contrôler efficacement, sans aucun traitement anthelminthique, les strongles gastro-intestinaux. Un autre axe très prometteur a donc été exploré au cours de ces trente dernières années : la résistance génétique de l'hôte aux parasites.

#### ***4.4. Résistance génétique de l'hôte aux parasites***

##### ***4.4.1. Variabilité individuelle de la sensibilité aux strongles***

Depuis des années, il est connu qu'il existe une variabilité individuelle de la sensibilité aux strongles.

Des différences interraciales ont tout d'abord été mises en évidence. Entre les races, il a été montré qu'une race originaire de Floride est plus résistante qu'un mouton Suffolk. En effet, sur une étude de 8 ans, l'hématocrite et l'excrétion fécale d'œufs ont été monitorés, tout d'abord pendant 3 ans sur différentes pâtures, puis 5 ans sur une pâture commune. En pâturage séparé, l'hématocrite était significativement plus faible, et l'excrétion fécale plus élevée, chez une race non adaptée au parasite. De même le nombre de traitements, administrés à la demande pour chaque animal en fonction de son état général et de son hématocrite, étaient de 27 chez des brebis Suffolk contre 1 chez les Gulf Coast Native. On retrouve cette différence chez les agneaux : 13 chez les Suffolk contre 0 chez les Native. Ces différences ont persisté pendant la seconde phase de l'étude (Miller et al. 1998).

Le mécanisme de cette variabilité interr raciale a été recherché en comparant les réponses immunitaires à une infestation à *Hæmonchus contortus* chez des agneaux Barbados Black Belly (BBB) et INRA 401. La première est une race résistante, alors que la seconde est une race sensible à *H. contortus*. Suite à une première infestation, les deux races développent une réponse de type Th2, mais la transcription d'ARN messenger codant pour cette cytokine, ainsi que l'éosinophilie, sont plus importantes chez la BBB. Le recrutement de mastocytes et d'éosinophiles au niveau de la caillette est équivalent dans les deux races 4 jours et 30 jours post infection. L'excrétion fécale est moins importante chez les agneaux BBB. De même, le nombre de vers installés, le nombre d'œufs *in utero*

chez les femelles adultes, ainsi que la longueur des vers étaient plus grands chez les agneaux INRA 401 (Terefe et al. 2007). L'excrétion fécale est la résultante de l'installation, du développement et de la fécondité des parasites. La longueur des parasites est directement corrélée avec leur fécondité (Henderson et Stear 2006). En seconde infestation, l'ensemble des paramètres parasitologiques était moins diminué que lors de la première infestation chez les agneaux INRA, phénomène non retrouvé chez les BBB. Il existe donc une possible immunité acquise chez des races qui sont au départ sensibles au parasite (Terefe et al. 2007).

Par la suite, des études ont confirmé cette variabilité au sein d'une même race. Des moutons Mérinos n'excrètent pas la même quantité d'œufs suite à une infestation expérimentale avec des larves L3 d'*H. contortus* (Woolaston et al. 1990) . Il en est de même pour des brebis INRA 401 avec *H. contortus* ou *T. colubriformis* (Gruner et al. 2004a).

Il semblerait que, entre individus d'une même race, la résistance ait une base immunitaire indéniable. En effet, les adaptations des BBB mentionnées dans l'étude de Terefe et al. 2007 sont retrouvées lorsque l'on étudie les réponses immunitaires d'agneaux Mérinos ou INRA 401 sensibles et résistants (Gill et al. 1993; Lacroux et al. 2006; Terefe et al. 2007). La réponse immunitaire s'oriente vers une réponse de type Th2 d'autant plus précoce que l'animal a déjà été infecté (Lacroux et al, 2006). On note aussi un titre d'anticorps plus important lorsque l'on injecte un antigène lymphocytes T - dépendant chez des animaux résistants que chez des animaux sensibles. Cependant, lors d'une seconde administration, les réponses sont équivalentes dans les deux groupes (Gill et al, 1993). On retrouve également dans une étude travaillant sur des croisements backcross Martinik Black Belly et Romane que la longueur des nématodes femelles adultes est plus faible de 1.6mm chez des animaux résistants aux parasites, et présentent 1.5 fois moins d'œufs *in utero* (Sallé et al. 2014).

#### ***4.4.2. Choix d'un caractère phénotypique***

Les caractères phénotypiques utilisables pour déterminer le statut résistant ou sensible contre les strongles sont de plusieurs natures (Beh et Maddox 1996) :

- Indicateur direct de la charge parasitaire : intensité de l'excrétion d'œufs dans les matières fécales, réalisation longue même pour un opérateur expérimenté. Ce paramètre est sensible et surtout très spécifique. En effet, dans le cadre d'infestations expérimentales, l'excrétion fécale est contrôlée avant infestation pour évaluer le statut parasitaire de l'animal. Puis, une fois infesté, il est possible d'empêcher la non-ingestion d'autres parasites pouvant fausser la procédure en gardant les animaux en bergerie.

Enfin, la période prépatente étant de 3 semaines, il est possible d'obtenir un résultat en moins d'un mois.

- Indicateurs indirects : anticorps sériques ou salivaires, éosinophiles circulants, pepsinogène plasmatique, hématoците, DAG score, ... souvent plus rapides à réaliser, mais moins sensibles ou spécifiques. En effet, une chute d'hématoците, ou un DAG score plus élevé peuvent avoir plusieurs causes, moins facilement contrôlables. De plus, les marqueurs de la réponse immunitaire (anticorps sériques ou salivaires) mettent beaucoup de temps à s'établir. Il faudra donc un délai plus important pour obtenir un résultat sur le statut phénotypique de l'animal qu'avec la mesure d'excrétion fécale en infestation expérimentale.

La recherche de variabilité s'est donc faite sur des infestations expérimentales, le plus souvent à partir d'*Hæmonchus contortus*, avec contrôle de l'excrétion fécale exprimée en « œufs par gramme » ou « OPG ».

#### **4.4.3. Héritabilité du caractère « OPG »**

De nombreuses études se sont intéressées à l'héritabilité et la faisabilité d'une sélection génétique sur l'excrétion fécale d'œufs de strongles.

Le tableau 3 présente l'ensemble des résultats recueillis selon l'habitat, la race, l'espèce de nématode utilisée ... On voit que l'héritabilité de l'intensité de l'excrétion fécale d'œufs d'*H. contortus* varie majoritairement entre 0.2 et 0.5 en région tempérée (De La Chevrotière et al. 2011). Ces valeurs d'héritabilités sont suffisantes pour permettre la mise en place d'une sélection génétique d'animaux résistants (Sicard 2010).

Le caractère OPG pour *H. contortus* est donc réalisable facilement, permettant une discrimination plus rapide qu'avec des anticorps et avec une héritabilité permettant une sélection efficace.

Tableau 3 : Héritabilités du caractère de résistance aux strongles gastro-intestinaux pour des populations ovines et caprines (d'après De La Chevrotière et al. 2011)

Région	Type infestation <sup>1</sup>	Espèces nématodes <sup>2</sup>	Race	Héritabilité	Références
Tropical	IN	Mixte	Fijian	0,04 ± 0,03	Woolaston <i>et al</i> 1992
Subtropical	IN	Mixte	Galla + Small East African	0,20 ± 0,14	Baker <i>et al</i> 2001
	IN	Mixte	Barbari	0,13 ± 0,04	Mandal et Sharma, 2008
	IN	Mixte	Creole	0,33 ± 0,06	Mandonnet <i>et al</i> 2001
	IN	Mixte	Avikalin	0,15 ± 0,10	Prince <i>et al</i> 2010
	IN	Mixte	Red Massai	0,33 ± 0,10	Baker <i>et al</i> 1994
	IN	Mixte	Dorper	0,31 ± 0,14	Baker <i>et al</i> 2003
	IN	Mixte	Santa Ines	0,18 ± 0,05	McManus <i>et al</i> 2009
	IE	Hc	Garole et Decanni	0,36 ± 0,22	Nimbkar <i>et al</i> 2003
Tempéré	IE -IN	Tc-Mixte	Australian Angora	0,12 ± 0,08	Bolormaa <i>et al</i> 2010a
	IN	Mixte	Cross bred cashmere	0,17 ± 0,02	Vagenas <i>et al</i> 2002
	IN	Mixte	Saanen	0,05 ± 0,03	Morris <i>et al</i> 1997b
	IN	Mixte	Blueface Leicester X Scottish Blackface	0,09 ± 0,04	Wolf <i>et al</i> 2008
	IE	Hc, Tc	INRA401	0,39 à 0,48	Gruner <i>et al</i> 2004
	IN	Mixte	Rhön	0,44 ± 0,11	Gauly et Erhardt, 2001
	IN	Mixte	Polish longwool	0,20 à 0,33	Bouix <i>et al</i> 1998
	IE	Hc	50% Dorset, 25% Romney 25% Finnsheep	0,19	Vanimisetti <i>et al</i> 2004
	IN	Mixte	Perendale	0,22 ± 0,03	Morris <i>et al</i> 2005
	IN	Mixte	Texel	0,17 à 0,25	Bishop <i>et al</i> 2004
	IN	Mixte	Soay	0,26 ± 0,01	Beraldi <i>et al</i> 2007
	IN	Mixte	Scottish Blackface	0,33 ± 0,15	Davies <i>et al</i> 2005
	IN	Mixte	Menz	0,01 ± 0,02	Rege <i>et al</i> 2002
	IN	Mixte	Crossbred romney	0,34 ± 0,20	Watson <i>et al</i> 1986
	IN	Mixte	Romney	0,42 ± 0,06	Morris <i>et al</i> 1997a
	IN	Mixte	Romney	0,13 ± 0,07	McEwan <i>et al</i> 1992
	IN	Mixte	Romney	0,35 ± 0,02	Morris <i>et al</i> 2004
	IE	Hc	Merinoland	0,17 ± 0,07	Gauly <i>et al</i> 2002
	IE	Hc	Merino-HR-LR	0,49 ± 0,17	Srèter <i>et al</i> 1994
	IE	Hc	Merino	0,29 ± 0,03	Woolaston et Piper, 1996
	IE	Hc	Merino	0,26 ± 0,09	Albers <i>et al</i> 1987
	IN	Mixte	Merino	0,21 ± 0,02	Khusro <i>et al</i> 2004
	IE	Tc	Merino	0,39 ± 0,05	Woolaston et Windon, 2001
	IN	Mixte	Merino	0,33 ± 0,11	Pollot <i>et al</i> 2004

<sup>1</sup> IN : Infestation Naturelle; IE : Infestation Expérimentale.

<sup>2</sup> HC : *Haemonchus Contortus* ; TC : *Trichostrongylus Colubriformis*.

#### **4.4.4. Infestation naturelle**

Des lignées divergentes ont été créées depuis les années 80 selon leur sensibilité aux nématodes. Citons par exemple une lignée initiée en 1977, composée de brebis de 2 à 6 ans, répartie en fonction de la chute d'hématocrite suite à une infestation expérimentale avec *H. contortus*. Pendant dix ans, chaque année, la descendance était infestée par *H. contortus* et l'excrétion fécale d'œufs était contrôlée pour replacer les individus dans la lignée résistante ou sensible (Woolaston et al. 1990). Les agneaux des deux lignées ainsi obtenues ont été placés sur des pâtures séparées, contaminées par *H. contortus*. Les différences d'hématocrite et d'excrétion fécale d'œufs se retrouvaient au pâturage en infestation naturelle (Woolaston et al. 1990).

L'intérêt de faire pâturer des individus résistants est également épidémiologique. Les animaux les plus sensibles sont les agneaux mis à l'herbe pour la première fois au printemps, et de ce fait excrètent beaucoup d'œufs et participent grandement à la contamination des prairies. Gruner et al. 2002 ont étudié l'évolution de la population de nématodes au cours de la saison de pâturage pendant 4 ans, lorsque des moutons résistants (R) ou sensibles (S) y sont installés. La sélection s'est faite expérimentalement, sur infestation avec des larves L3 de *Trichostrongylus colubriformis* et *Teladorsagia circumcincta*, sans création de lignée divergente. L'excrétion fécale d'œufs de *T. circumcincta* était plus faible de 50% chez les moutons résistants, avec 25% de larves L3 en moins présentes sur leur pâture. La diminution d'excrétion fécale montait à 75% pour *T. colubriformis*, avec jusqu'à 96% de larves L3 en moins sur la pâture. Aucun traitement anthelminthique n'a été administré aux agneaux placés sur la pâture R au cours de ces quatre ans. Ces résultats montrent qu'une sélection génétique permet de diminuer la contamination des pâtures et de protéger les jeunes animaux (Gruner et al. 2002).

L'héritabilité d'une mesure d'excrétion fécale est du même ordre de grandeur en infestation naturelle qu'en infestation artificielle. Par exemple, Gruner et al. 2004 ont mis en évidence une héritabilité de 0.22 en infestation expérimentale contre 0.38 en naturelle. La corrélation génétique entre les mesures d'excrétion fécale selon le mode d'infestation est très grande (0.87), signifiant que les mécanismes génétiques permettant la résistance aux strongles sont les mêmes en infestation naturelle ou artificielle. Il est donc pertinent de sélectionner expérimentalement des individus résistants destinés à s'infester par la suite en pâture (Gruner et al. 2004b).

#### **4.4.5. Impact sur la zootechnie**

La sélection génétique dans d'autres domaines a été responsable de la baisse de performances zootechniques. On peut citer l'exemple du contrôle laitier qui permet de sélectionner sur le taux de cellules dans le lait, la quantité de lait par lactation, ... Mais ceci a entraîné une baisse de la fertilité mesurée par un intervalle Vêlage – 1<sup>ère</sup> insémination augmenté et un taux de réussite des inséminations diminué (Boichard 2000). De telles conséquences dans une sélection éventuelle contre les strongles ont été recherchées.

Une première phase de l'étude des relations entre résistance aux strongles et paramètres de production s'est faite à l'aide de recherche de corrélation entre les paramètres phénotypiques de la résistance aux strongles et les paramètres de reproduction. La fertilité est le rapport entre les brebis gravides et l'ensemble des brebis mises à la reproduction. La prolificité est le nombre moyen d'agneaux nés par mère. Dans une cohorte de brebis, infestées avec *H. contortus*, la fertilité et la prolificité avaient un coefficient de corrélation phénotypique proche de zéro (entre -0.01 et 0.06) avec les moyennes d'hématocrite et d'excrétion fécale (Vanimisetti et al. 2004).

Une équipe de chercheurs a tenté d'évaluer l'impact zootechnique de la sélection sur la résistance aux SGI en comparant un groupe résistant et un groupe non sélectionné de moutons Mérinos. Ils ont mis en évidence que la prise alimentaire, la digestibilité et l'utilisation d'azote étaient équivalentes. Sans infestation, la toison des moutons résistants pousse plus rapidement. Lors d'infestation, la chute de vitesse de croissance de la laine était plus importante et plus précoce chez les animaux résistants, mais le retour à la normale était plus rapide que chez les animaux contrôles. Ainsi, la croissance moyenne de la toison n'était pas affectée sur l'ensemble de l'étude (Liu et al. 2005).

Peu de données existent concernant le GMQ des agneaux durant les premiers mois de vie.

Des études montrent que des moutons résistants aux strongles répondent aussi rapidement et aussi efficacement à des antigènes inconnus (ici l'ovalbumine et des antigènes de globules rouges humains) que des moutons sensibles. En effet, aucune différence n'a été relevée dans la cinétique d'apparition d'anticorps, excepté un titre diminuant plus rapidement après le pic chez les animaux résistants, ainsi que dans les proportions de lymphocytes CD4+, CD5+, CD8+ et CD45R+ (Pernthaner et al. 1995).

## ***5. Intérêt de l'étude***

Une sélection génétique contre les strongles gastro-intestinaux est possible. La variabilité individuelle et les caractères phénotypiques permettant de la mettre en évidence existent en infestation expérimentale. Ils sont de plus assez héréditaires pour permettre cette sélection. Cette variabilité individuelle a été vérifiée en infestation naturelle. Cependant, les animaux dans ces études étaient soit issus de lignées divergentes (des parents déjà sélectionnés sur quelques générations), soit placés sur des parcelles différentes en fonction de leur statut génétique, soit les deux. Dans ces conditions, la sélection n'avait pas de conséquence sur leurs paramètres zootechniques.

Cette étude a été construite comme une mise en place de sélection génétique, constituée de trois phases :

- Sélection sur épreuve expérimentale.
- Constitution de deux groupes de femelles, l'un composé d'individus à faible excrétion d'œufs et l'autre d'individus à très forte excrétion d'œufs et leur suivi sur les mêmes pâtures pendant 3 saisons de pâturage (données parasitologiques et zootechniques).
- Nouvelle épreuve expérimentale des brebis survivantes pour clôturer l'étude, trois années après la première épreuve expérimentale.

La mise en place de la sélection génétique sera progressive chez les éleveurs, ils ne renouvelleront pas la totalité de leur troupeau en une fois. De plus, compte tenu de la difficulté à gérer tous les lots ou sous troupeaux déjà existants (agnelles de l'année, brebis, agneaux à l'engraissement, ...), il est peu probable que les éleveurs aient des parcelles dédiées respectivement aux animaux résistants et aux animaux sensibles. C'est cette interaction que nous avons cherché à étudier ici : la cohabitation de brebis sensibles et résistantes, en début de sélection (donc non issues de lignées divergentes), et l'impact sur leurs paramètres parasitologiques et zootechniques.

***SELECTION ET SUIVI DE BREBIS  
RESISTANTES ET SENSIBLES A  
HAEMONCHUS CONTORTUS  
PENDANT TROIS ANS***



# 1. Matériel et méthodes

## 1.1. Sélection des agnelles sensibles et résistantes

### 1.1.1. Choix d'agnelles, infestations et prélèvements

Une cohorte de 104 agnelles de race Blanc du Massif Central (BMC), toutes issues des agnelages de l'automne 2010, dans la station de sélection Fedatest (Mazeyrat d'Allier, Haute-Loire, France) est infestée en janvier 2011, à l'âge de trois mois environ avec 3500 larves de stade L3 du parasite *Hæmonchus contortus* (souche Humeau originaire du Gers et entretenue à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse depuis 2002). Les agnelles sont restées en bergerie depuis leur naissance et le resteront jusqu'à la fin de l'étape de sélection.

Des fèces sont directement récupérées dans le rectum des animaux (introduction de deux doigts gantés dans le rectum de l'animal, mouvement de rotation pour extérioriser les matières fécales). Si l'animal à prélever a un rectum vide ou contenant trop peu de matières fécales, un envoi différé de maximum 12h est réalisé. Si l'animal ne fournit toujours pas assez de matières, il est exclu. Chaque prélèvement de matières fécales est ensuite conditionné individuellement (un pot par animal). Pour chaque animal sélectionné, du sang veineux est également prélevé à la jugulaire sur tube EDTA et sur tube hépariné.

30 jours post-infestation, de nouveaux prélèvements de sang et de matières fécales sont réalisés, puis, le même jour, les agnelles sont traitées avec de l'ivermectine buvable (ORAMEC OVIN ND, Merial) à la posologie de 0.2 mg/kg de poids vif, selon les recommandations du fabricant.

Deux semaines plus tard, une nouvelle infestation expérimentale est réalisée selon le même protocole que cité précédemment à la différence que 5000 larves sont administrées à chaque agnelle.



Figure 6 : Chronologie des infestations expérimentales de 2011

Le comptage des oeufs est effectué par la technique de Mac Master modifiée par Raynaud (Raynaud et al. 1979): 3 g de fèces sont délités dans 42 mL d'une solution sursaturée en NaCl (densité>1,18), ce qui correspond à une dilution au 1/15ème. La suspension obtenue est filtrée par trois passages successifs au travers d'une passoire à thé et les deux chambres d'une lame de Mac Master sont remplies avec le filtrat obtenu.

Chaque réseau des deux chambres de la lame de Mac Master est observé à l'objectif x10 du microscope (grossissement x100), puis si aucun œuf n'est identifié, l'ensemble de la chambre est observé. Les formules suivantes permettent de calculer le nombre d'OPG avec cette dilution :

- $OPG = (\text{nombre d'œufs dans les deux réseaux}) \times 50$  et si aucun œuf n'est visible dans les deux réseaux, alors :
- $OPG = (\text{nombre d'œufs dans les deux chambres}) \times 15$

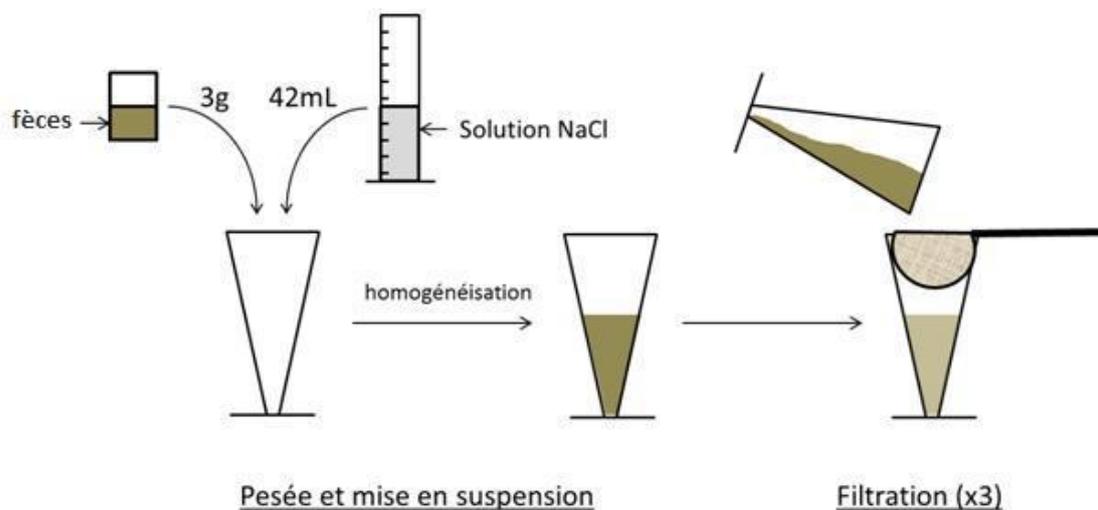


Figure 7 : Schéma de la méthode de coproscopie utilisée (d'après Bonnefont et Canellas 2014)

De plus, chaque tube hépariné est centrifugé, le sérum est séparé du culot, identifié et congelé à  $-18^{\circ}\text{C}$  pour une utilisation ultérieure.

Enfin, chaque tube EDTA est homogénéisé de nouveau, et un microhématocrite est réalisé. Pour se faire, un tube à microhématocrite est rempli de sang EDTA, puis scellé et centrifugé à 10 000 tours/min pendant 5 minutes. Enfin le rapport entre la hauteur de cellules et la hauteur totale de liquide, exprimé en pourcentage, donne la valeur de l'hématocrite.

### **1.1.2. Analyse statistique et création de l'échantillon**

Les données sont analysées à l'aide du logiciel EXCEL. La sélection est faite sur les OPG de la seconde infestation. La première sélection reflète la capacité innée des moutons à résister ou non aux strongles. La seconde prend en compte l'adaptation du système immunitaire au parasitisme auquel il est soumis. C'est ce qui a été recherché dans cette étude. De plus, multiplier les infestations et les prélèvements permet une meilleure appréciation de la résistance de chaque individu (Gruner et al. 1998).

Au total, 28 agnelles sont retenues dans chaque groupe :

- Le premier groupe comprend les 28 brebis excréant le moins d'œufs d'*H. contortus* en seconde infestation, et sont dénommées « Résistantes » ou R par la suite.
- Le second groupe comprend les 28 brebis excréant le plus d'œufs, et sont dénommées « Sensibles » ou S par la suite.

A la fin de la seconde infestation, toutes les agnelles ont été traitées à l'ivermectine orale (ORAMEC OVIN ND) à la posologie de 0.2 mg/kg de poids vif.

## **1.2. Suivi parasitologique et zootechnique sur trois saisons de pâture**

### **1.2.1. Gestion du troupeau au cours de la phase 2**

A l'issue de cette phase de sélection, les deux cohortes R et S ont été mises à l'herbe en avril 2011 sur une même parcelle ayant été pâturée l'année précédente (donc contaminée par des larves de strongles gastro-intestinaux) et ce jusqu'à début octobre 2011. La conduite au pâturage s'est faite en utilisant successivement des sous divisions de cette parcelle (conduite au fil) en prenant en compte uniquement des facteurs agronomiques (pousse et disponibilité en herbe) pour le déplacement des animaux. Les agnelles ont été traitées au Cestocur ND fin mai 2011 pour le contrôle des infestations par le « ténia », *Moniezia expansa*, ce traitement n'ayant aucun effet sur les infestations par les strongles gastro-intestinaux. Aucun traitement strongicide rémanent (Cydectine orale par exemple) n'a été fait le jour de la mise à l'herbe afin que les agnelles puissent se contaminer dès leur placement sur la parcelle contaminée. Le même schéma a été reproduit les années suivantes, 2012 et 2013.

La zone géographique des pâtures est la même que celle de l'élevage source.

Chaque année, la mise à la lutte s'est déroulée fin juin, début juillet pour des agnelages en novembre. La rentrée à la bergerie avait lieu deuxième moitié d'octobre, juste avant les agnelages pour une meilleure surveillance.

Un traitement antiparasitaire avec de l'ivermectine buvable (ORAMEC OVIN ND, Merial) à la posologie recommandée par le fabricant, a été réalisé à chaque rentrée en bergerie. Le troupeau a été par ailleurs mené de manière conventionnelle, sans précaution particulière.

### ***1.2.2. Prélèvements et mesures réalisés***

Quatre points de collecte d'échantillons ont été fixés par saison : fin mai (soit six semaines minimum après la mise à l'herbe), en juillet, fin août et à la rentrée en bergerie (octobre). Les prélèvements effectués étaient les mêmes que lors de la phase 1, à savoir fèces, sang veineux sur tube EDTA et sang veineux sur tube hépariné.

Les mesures réalisées ont été les mêmes que lors de la phase 1 :

- Intensité d'excrétion d'œufs de strongles gastro-intestinaux
- Hématocrite

En 2011, des coprocultures ont été réalisées en juillet (milieu de saison de pâture) et en octobre (fin de saison de pâture) à partir de deux mélanges de fèces (un pour les agnelles résistantes et l'autre pour les agnelles sensibles). Ces mélanges ont été placés à 24°C +/- 1°C pendant 12 jours et humidifiés tous les deux jours. Les larves infestantes obtenues ont été identifiées selon la méthode de Van Wyk (Van Wyk et al. 2004) ce qui a permis de déterminer l'helminthofaune présente sur le site de Mazeyrat d'Allier de FEDATEST.

En fin d'étude, tous les sérums congelés ont été analysés pour dosage du pepsinogène sérique selon la méthode de Dorny et Vercruysse (Dorny et Vercruysse 1998). Le principe de cette méthode est de placer le sérum en milieu acide pour que le pepsinogène soit activé en pepsine, puis d'y ajouter une protéine donnée, ici l'albumine bovine. Pendant l'incubation, la protéine est dégradée en acides aminés. Du folin est ajouté à la fin de l'incubation pour se fixer à la tyrosine. Une mesure d'absorbance à 630nm permet de déterminer, avec une gamme étalon, la quantité de tyrosine, et donc une concentration de pepsinogène en unité de tyrosine par millilitre. Le protocole complet est disponible en annexe I. Le niveau basal a été fixé sur le sérum prélevé à J0 de la première infestation expérimentale, c'est-à-dire avant tout contact avec un strongle gastro intestinal. Pour limiter les variations dues à la manipulation, l'ensemble des sérums d'un animal est analysé le même jour sur la même manipulation.

Plusieurs mesures ont également été réalisées lors des agnelages : fertilité et prolificité des brebis, GMQ à 30 jours et 70 jours, ratio mâle/femelle, durée de l'engraissement, mortalité des agneaux et nombre d'agneaux sevrés vivants par brebis. Les données ont été extraites du fichier de données nationales OVALL, à l'INRA de Castanet-Tolosane. Les performances zootechniques ont été comparées entre les brebis du groupe R et celles du groupe S.

### ***1.2.3. Analyse statistique***

Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS/STAT de SAS Analytics®, à l'INRA de Toulouse, sur le site de Castanet-Tolosane. L'analyse a été supervisée par le Pr Philippe JACQUIET de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse et M Dominique FRANCOIS de l'unité GenPhySE de l'INRA.

En prévention des pertes potentielles qu'occasionne une gestion classique de troupeau sur trois ans, une analyse de variance pour système non équilibré a été préférée, réalisée à l'aide de la procédure GLM de SAS/STAT. Elle permet de gérer des effectifs de tailles différentes dans chaque groupe. Des recherches de corrélation de variables ont également été réalisées.

### ***1.3. Infestation expérimentale de fin d'étude***

A la fin des 3 saisons de pâture, en février 2014 (à une date où les brebis étaient toutes en bergerie), une nouvelle infestation expérimentale a été réalisée. Le schéma expérimental est le même que 3 ans plus tôt. La dose de larves ingérée est restée inchangée (cf. figure 6). L'analyse statistique a également été réalisée à l'aide du logiciel SAS/STAT.

## 2. Résultats

### 2.1. Sélection des agnelles sensibles et résistantes

Toutes les agnelles ont complété cette phase en 2011. La distribution des OPG des agnelles sur la première et la seconde infestation sont représentées respectivement en figure 8, 9 et 10. On observe une grande variabilité individuelle dans l'intensité d'excrétion d'œufs en première comme en seconde infestation.

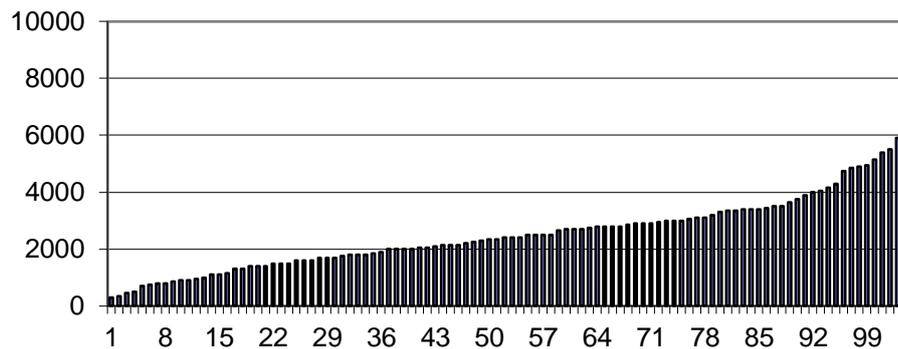


Figure 8 : Distribution des intensités d'excrétion d'œufs à J28 de la première infestation de la phase de sélection (2011)

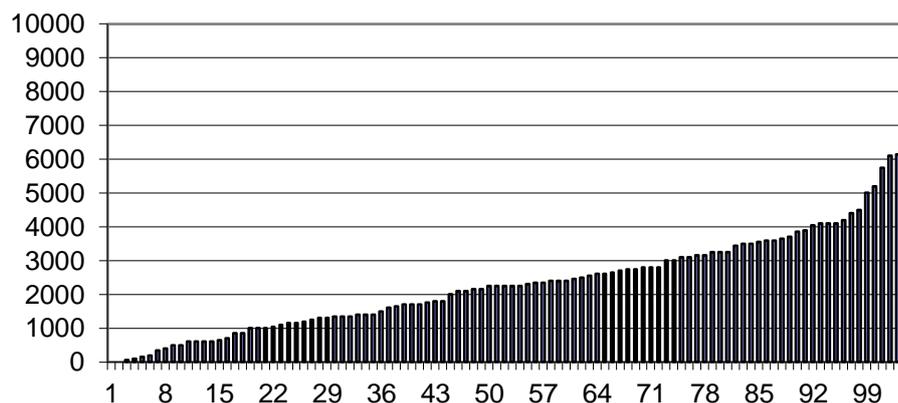


Figure 9 : Distribution des intensités d'excrétion d'œufs à J28 de la seconde infestation de la phase de sélection (2011)

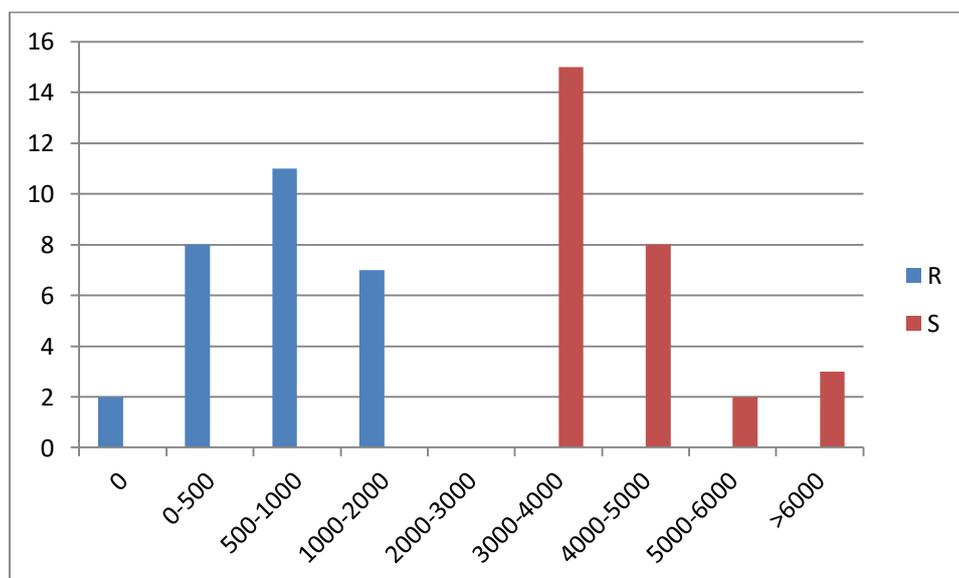
Dans un premier temps, les 16 brebis les moins excrétrices et les 15 brebis les plus excrétrices ont été sélectionnées, ce qui correspondait aux brebis dont l'intensité d'excrétion d'œufs en seconde infestation se trouvait à l'extérieur de l'intervalle [moyenne - 1 écart-type ; moyenne + 1 écart-type].

Toutefois, ce nombre de brebis étant jugé insuffisant pour un suivi sur trois années complètes de pâturage en raison des pertes possibles au cours de ce type de protocole, un complément de 10 brebis pour les R et de 11 brebis pour les S. Ce complément a été choisi parmi les agnelles dont les excréments d'œufs étaient à peine plus élevées que celles des 16 R et à peine moins élevées que celles des 15 S du tri initial. Vous trouverez dans le tableau 4 les moyennes d'OPG des groupes ainsi constitués.

Les hémocrites des groupes ainsi constitués ont été étudiés. Les valeurs des hémocrites à la fin des deux infestations sont présentées dans le tableau 5. Après vérification qu'il n'y ait pas de différence significative entre les hémocrites avant toute infestation ( $p=0.8755$ ), on note que les hémocrites des agnelles S sont plus diminués que ceux des R en deuxième infestation. Cette différence est significative avec une p-value égale à 0.0003.

**Tableau 4 : Moyenne et bornes des intensités d'excrétion d'œufs d'H. contortus dans les deux groupes R et S obtenus par sélection phénotypique**

	Infestation 1		Infestation 2	
	R	S	R	S
Moyenne	2086	2775	675	4277
Minimum - Maximum	300-4850	350-6300	0-1300	3150-9750



**Figure 10 : Répartition des agnelles R et S selon la classe d'excrétion d'œufs à J28 de la seconde infestation expérimentale lors de la phase de sélection initiale en 2011**

**Tableau 5 : Moyenne, écart-type, médiane, minimum et maximum des hématocrites à l'issue des deux infestations expérimentales de 2011**

	Infestation 1		Infestation 2	
	Hématocrite agnelles R	Hématocrite agnelles S	Hématocrite agnelles R	Hématocrite agnelles S
Moyenne	30.82	30.32	32.29	29.25
Ecart-type	2.44	2.63	2.79	3.12
Médiane	30.5	30.5	32.5	29.5
Minimum	26	25	24	24
Maximum	35	35	37	35
p-value Moyenne	0.4632		0.0003	

## ***2.2. Suivi parasitologique sur trois saisons de pâture***

Sur les 58 brebis sélectionnées, 43 ont un jeu de données complet sur les trois années de pâture, 12 sont mortes ou ont été réformées (une R et une S en 2012, 8 R et 3 S en 2013) et 3 ont manqué un point de prélèvement (absente, rectum vide, ...). Un traitement antiparasitaire à l'ivermectine orale (ORAMEC OVIN ND) à la posologie de 0.2 mg/kg de poids vif, non planifié, a été administré en juillet 2011, après les prélèvements, par crainte du responsable du troupeau pour ses animaux. Le prélèvement de mai 2013 n'a pas eu lieu compte tenu de la sortie tardive des animaux cette année-là en raison des conditions météorologiques.

- Intensités d'excrétion fécale d'œufs de strongles gastro-intestinaux

L'ensemble des moyennes des excréments fécaux de chaque prélèvement pour les brebis R et S est présenté en figure 11 et dans le tableau 6. Ces valeurs sont faibles. Pour rappel, en pratique, il est conseillé de traiter lorsque les excréments fécaux dépassent 500 OPG. Ici, les valeurs sont en moyenne inférieures à 200 OPG, avec une augmentation en octobre 2011, août et octobre 2013.

L'effet des mois et des années a été ajouté au modèle, associé à l'effet du groupe de brebis.

Dans le tableau 7 sont regroupées les p-values de l'effet « Groupe » dans ce modèle, pour les différentes années, ainsi que sur l'ensemble de la phase 2. Il est à noter également que l'effet « Saison » est significatif pour les trois années. Pour ce qui est de l'intérêt de la sélection en fonction de la période de l'année, le même tableau a été dressé et est visible dans le tableau 8.

Il est à noter que l'effet bénéfique de la sélection n'est significatif que la première année. De même, l'effet « Groupe » n'est significatif que pour le mois de juillet.

Des recherches de corrélations entre variables ont également été réalisées. Les OPG de prélèvements successifs montrent une corrélation significative entre les valeurs des années 2011 et 2013. Les comparaisons de mois d'une année sur l'autre montrent une corrélation significative entre 2011 et 2013 pour les valeurs des mois de juillet et d'août. La corrélation entre celles du mois d'octobre est également très significative lorsque deux valeurs déviantes sont écartées (les brebis 10104 et 10790, respectivement R et S, ont des OPG bien supérieurs au reste du groupe). L'ensemble des résultats est visible dans les tableaux 9 et 10.

Tableau 6 : Moyenne, écart-type, médiane, minimum et maximum des valeurs d'excrétion fécale à chaque prélèvement, dans chaque groupe

Année	Mois	Moyenne OPG R	Ecart type OPG R	Médiane OPG R	Minimum OPG R	Maximum OPG R	Moyenne OPG S	Ecart type OPG S	Médiane OPG S	Minimum OPG S	Maximum OPG S	p-value Effet groupe
2011	Mai	76	91	55	0	350	99	93	75	0	400	0.347
	Juillet	130	85	55	0	300	287	232	75	50	900	0.0016
	Aout	34	66	15	0	300	70	152	15	0	800	0.2652
2012	Octobre	293	276	200	30	1500	546	793	300	50	4000	0.1182
	Mai	56	71	50	0	250	61	65	50	0	200	0.8059
	Juillet	177	223	50	0	700	241	270	200	0	1400	0.3489
2013	Aout	151	165	100	0	550	219	250	100	0	1100	0.2486
	Octobre	234	375	30	0	1250	82	124	15	0	550	0.0593
	Juillet	32	50	0	0	150	99	226	0	0	1050	0.2429
2013	Aout	437	480	200	0	1700	590	773	400	0	3600	0.4526
	Octobre	1317	1580	850	50	6500	1636	2829	700	50	12950	0.6942
	Octobre sans déviants	946	689	800	50	2100	1097	1303	650	50	5850	0.6937

Tableau 7 : Effet de la sélection sur l'excrétion fécale d'œufs en pâturage naturel par année

	Moyenne OPG R	Ecart-type OPG R	Médiane OPG R	Minimum OPG R	Maximum OPG R	Moyenne OPG S	Ecart-type OPG S	Médiane OPG S	Minimum OPG S	Maximum OPG S	p-value Effet groupe
Année 2011	133	182	55	0	1500	242	443	75	0	4000	0.0061
Année 2012	155	240	50	0	1250	155	214	100	0	1400	0.9574
Année 2013	561	1027	150	0	6500	748	1739	250	0	12950	0.4918
Année 2013 sans les déviants	561	1027	150	0	2100	748	1739	250	0	5850	0.4918
Phase 2	222	508	50	0	6500	304	920	100	0	12950	0.1496

**Tableau 8 : Effet de la sélection sur l'excrétion fécale d'œufs en pâturage naturel par mois**

	Moyenne OPG R	Ecart-type OPG R	Médiane OPG R	Minimum OPG R	Maximum OPG R	Moyenne OPG S	Ecart-type OPG S	Médiane OPG S	Minimum OPG S	Maximum OPG S	p-value Effet groupe
Mai	67	82	50	0	350	82	83	60	0	400	0.3576
Juillet	124	158	50	0	700	214	253	75	0	1400	0.0007
Août	180	306	50	0	1700	283	507	100	0	3600	0.1959
Octobre	497	893	200	0	6500	718	1732	200	0	12950	0.5722
Octobre sans les déviants	497	893	200	0	2100	718	1732	200	0	5850	0.5722

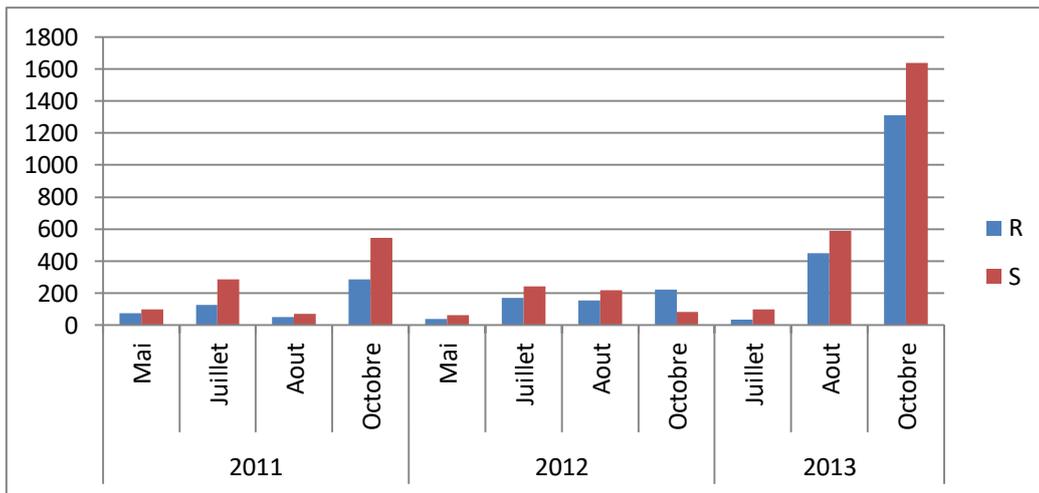


Figure 11 : Moyennes des excréments d'oeufs de strongles digestifs des brebis R et S au pâturage

Tableau 9 : Corrélations entre les OPG de prélèvements successifs

	Corrélation entre	Coefficient de corrélation	p-value
Année 2011	Mai et Juillet	0.30	0.0288
	Juillet et Aout	0.50	<0.0001
	Aout et Octobre	0.91	<0.0001
Année 2012	Mai et Juillet	0.098	0.5124
	Juillet et Aout	0.22	0.1054
	Aout et Octobre	0.33	0.0177
Année 2013	Juillet et Aout	0.65	<0.0001
	Aout et Octobre	0.58	0.0002
	Aout et Octobre sans déviants	0.69	<0.0001

**Tableau 10 : Corrélation entre les OPG de différentes années pour un même mois**

	Corrélation entre	Coefficient de corrélation	p-value
Mai	2011 et 2012	0.17	0.2420
Juillet	2011 et 2012	0.0095	0.9462
	2012 et 2013	0.013	0.9342
	2011 et 2013	0.62	<0.0001
Aout	2011 et 2012	0.19	0.1753
	2012 et 2013	0.16	0.2947
	2011 et 2013	0.64	<0.0001
Octobre	2011 et 2012	-0.013	0.9288
	2012 et 2013	-0.12	0.4841
	2011 et 2013	0.28	0.1036
Octobre sans les déviants	2011 et 2012	-0.013	0.9288
	2012 et 2013	-0.015	0.9329
	2011 et 2013	0.68	<0.0001

- Hématocrites

Le même travail d'analyse a été apporté aux données concernant les hématocrites. Les données sont rassemblées dans la figure 12, ainsi que dans les tableaux 11, 12, 13, 14 et 15. Il n'y a pas d'effet groupe R ou S sur les valeurs d'hématocrite. On peut noter qu'il existe des corrélations entre les mesures d'hématocrite sur la première année, entre les différents mois de mai et entre juillet 2011 et 2012, et 2011 et 2013.

**Tableau 11 : Moyenne, écart-type, médiane, minimum et maximum des valeurs d'hématocrite à chaque prélèvement, dans chaque groupe**

Année	Mois	Moyenne Ht R	Ecart type Ht R	Médiane Ht R	Minimum Ht R	Maximum Ht R	Moyenne Ht S	Ecart type Ht S	Médiane Ht S	Minimum Ht S	Maximum Ht S	p-value Effet groupe
2011	Mai	30.93	2.69	30.5	26	36	32.07	2.32	31.5	29	37	0.0949
	Juillet	32.32	2.93	33	23	36	33.07	1.94	33	30	37	0.2641
	Aout	33.18	3.08	33	26	40	32.21	3.01	31.5	28	41	0.2413
2012	Octobre	30.96	2.59	31	25	36	30.93	3.62	30.5	25	38	0.9663
	Mai	31.67	2.5	32	27	35	30.53	2.85	30.5	26	37	0.1238
	Juillet	30.78	2.85	31	26	36	31.15	2.49	31	26	37	0.6131
2013	Aout	29.44	2.61	29	25	35	29.96	2.81	30	24	35	0.485
	Octobre	33.54	3.19	34	26	40	33	3.52	32	27	40	0.566
	Juillet	30.37	2.61	31	24	35	29.36	3.17	30	25	35	0.2669
2013	Aout	32.95	2.39	33	29	37	31.48	3.03	31	26	38	0.0859
	Octobre	31	2.43	31	27	35	31.42	2.41	31	27	36	0.5836

Tableau 12 : Effet de la sélection sur l'hématocrite en pâturage naturel par année

	Moyenne Ht R	Ecart-type Ht R	Médiane Ht R	Minimum Ht R	Maximum Ht R	Moyenne Ht S	Ecart-type Ht S	Médiane Ht S	Minimum Ht S	Maximum Ht S	p-value Effet groupe
Année 2011	31.85	2.95	32	23	40	32.07	2.87	32	25	41	0.5549
Année 2012	31.34	3.13	31	25	40	31.14	3.11	31	24	40	0.6162
Année 2013	31.45	2.68	31	24	37	30.74	3.03	31	25	38	0.1484
Phase 2	31.57	2.97	32	23	40	31.39	3.04	31	0	41	0.5649

**Tableau 13 : Effet de la sélection sur l'hématocrite en pâturage naturel par mois**

	Moyenne Ht R	Ecart-type Ht R	Médiane Ht R	Minimum Ht R	Maximum Ht R	Moyenne Ht S	Ecart-type Ht S	Médiane Ht S	Minimum Ht S	Maximum Ht S	p-value Effet groupe
Mai	31.29	2.6	32	26	36	31.3	2.69	31	26	37	0.9741
Juillet	31.26	2.91	32	23	36	31.26	2.95	31.5	25	37	0.7825
Août	31.76	3.23	32	25	40	31.23	3.06	31	24	41	0.2098
Octobre	31.9	3.01	31.5	25	40	31.77	3.34	31	25	40	0.8622

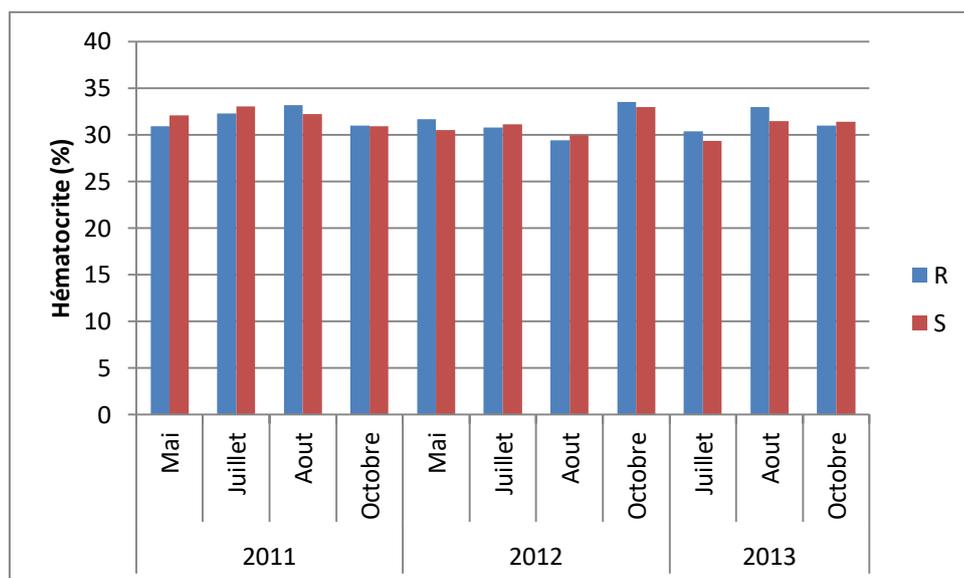


Figure 12 : Moyenne des hématoctrites des brebis R et S au pâturage

Tableau 14 : Corrélation entre les hématoctrites de prélèvements successifs

	Corrélation entre	Coefficient de corrélation	p-value
Année 2011	Mai et Juillet	0.44	0.0007
	Juillet et Aout	0.32	0.0156
	Aout et Octobre	0.46	0.0003
Année 2012	Mai et Juillet	0.15	0.2840
	Juillet et Aout	0.30	0.0268
	Aout et Octobre	-0.03	0.8600
Année 2013	Juillet et Aout	0.24	0.1102
	Aout et Octobre	0.25	0.1065

**Tableau 15 : Corrélation entre les hématocrites de différentes années**

	Corrélation entre	Coefficient de corrélation	p-value
Mai	2011 et 2012	0.5	0.0001
Juillet	2011 et 2012	0.27	0.0483
	2012 et 2013	0.15	0.3292
	2011 et 2013	0.33	0.0306
Aout	2011 et 2012	0.20	0.1385
	2012 et 2013	0.19	0.2223
	2011 et 2013	0.41	0.0063
Octobre	2011 et 2012	0.07	0.6236
	2012 et 2013	0.13	0.4309
	2011 et 2013	0.18	0.2689

- Dosage de pepsinogène sérique :

Enfin, les mesures de pepsinogène sérique ont été traitées de la même façon. La mesure de pepsinogène étant moins décrite chez les ovins que chez les bovins, une corrélation avec les OPG a été recherchée.

L'ensemble des moyennes pour les deux groupes est présenté en figure 13 et dans le tableau 16. Il n'existe pas de différence entre les valeurs de pepsinogène sérique avant toute infestation (pour le niveau basal,  $p=0.5134$ ). On note tout d'abord dans les tableaux 17 et 18 que l'effet « Groupe » est significatif sur une grande partie des mesures présentées, à savoir en 2011, 2012, en Mai et Juillet. De même, on retrouve une corrélation significative entre la majorité des mesures (cf. tableaux 19 et 20). Le mois d'octobre semble tout de même se détacher du lot.

On ne remarque pas de corrélation particulière entre la mesure des OPG et celle du pepsinogène, hormis deux mois ponctuellement. Il n'y a donc pas de corrélation entre les deux variables (cf. tableau 21).

**Tableau 16 : Moyenne, écart-type, médiane, minimum et maximum des valeurs de pepsinogène sérique à chaque prélèvement, dans chaque groupe (en Utyr / mL)**

Année	Mois	Pepsi R					Pepsi S					p-value Effet groupe
		Moyenne	Ecart type	Médiane	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart type	Médiane	Minimum	Maximum	
2011	Mai	0.91	0.42	1.05	0.1	1.72	1.1	0.57	1.03	0.3	2.35	0.1588
	Juillet	1.28	0.82	1.08	0.36	3.09	1.53	0.73	1.29	0.35	3.32	0.2333
	Aout	0.84	0.54	0.8	0.13	2.07	1.19	0.67	1.08	0.19	3.2	0.0415
	Octobre	0.63	0.52	0.44	0.07	1.91	0.7	0.43	0.56	0.08	1.73	0.5944
2012	Mai	1.22	0.79	1	0.28	3.57	1.56	0.74	1.44	0.5	3.64	0.1041
	Juillet	0.83	0.39	0.71	0.15	1.57	1.13	0.53	1.03	0.46	2.97	0.0254
	Aout	0.67	0.35	0.6	0.19	1.59	0.78	0.32	0.72	0.28	1.55	0.2591
	Octobre	0.84	0.72	0.6	0.07	2.96	1.26	1.39	0.64	0.2	5.29	0.1896
2013	Juillet	1.02	0.61	0.86	0.22	2.5	1.16	0.71	1.15	0.32	3.02	0.5113
	Aout	0.84	0.42	0.75	0.12	1.61	0.73	0.35	0.64	0.29	1.95	0.3896
	Octobre	1.03	0.44	1	0.37	1.76	1.05	0.86	0.82	0.42	3.84	0.901

Tableau 17 : Effet de la sélection sur la pepsinogénémie en pâturage naturel par année (en Utyr / mL)

	Moyenne Pepsi R	Ecart-type Pepsi R	Médiane Pepsi R	Minimum Pepsi R	Maximum Pepsi R	Moyenne Pepsi S	Ecart-type Pepsi S	Médiane Pepsi S	Minimum Pepsi S	Maximum Pepsi S	p-value Effet groupe
Année 2011	0.92	0.63	0.85	0.07	3.09	1.13	0.67	1.05	0.08	3.32	0.0087
Année 2012	0.89	0.62	0.69	0.07	3.57	1.18	0.87	0.97	0.2	5.29	0.0042
Année 2013	0.96	0.49	0.89	0.12	2.5	0.98	0.69	0.75	0.29	3.84	0.8435
Phase 2	0.92	0.6	0.81	0.07	3.57	1.11	0.76	0.91	0.08	5.29	0.0005

**Tableau 18 : Effet de la sélection sur la pepsinogénémie en pâturage naturel par mois (en Utyr / mL)**

	Moyenne Pepsi R		Ecart-type Pepsi R		Médiane Pepsi R		Minimum Pepsi R		Maximum Pepsi R		Moyenne Pepsi S		Ecart-type Pepsi S		Médiane Pepsi S		Minimum Pepsi S		Maximum Pepsi S		p-value Effet groupe		
Mai	1.06	0.64	1.04	0.1	0.1	3.57	1.33	0.7	1.16	0.3	3.64	0.0319											
Juillet	1.05	0.66	0.89	0.15	0.15	3.09	1.28	0.68	1.15	0.32	3.32	0.0009											
Août	0.78	0.45	0.66	0.12	0.12	2.07	0.91	0.52	0.76	0.19	3.2	0.0808											
Octobre	0.8	0.59	0.71	0.07	0.07	2.96	1	0.98	0.64	0.08	5.29	0.1854											

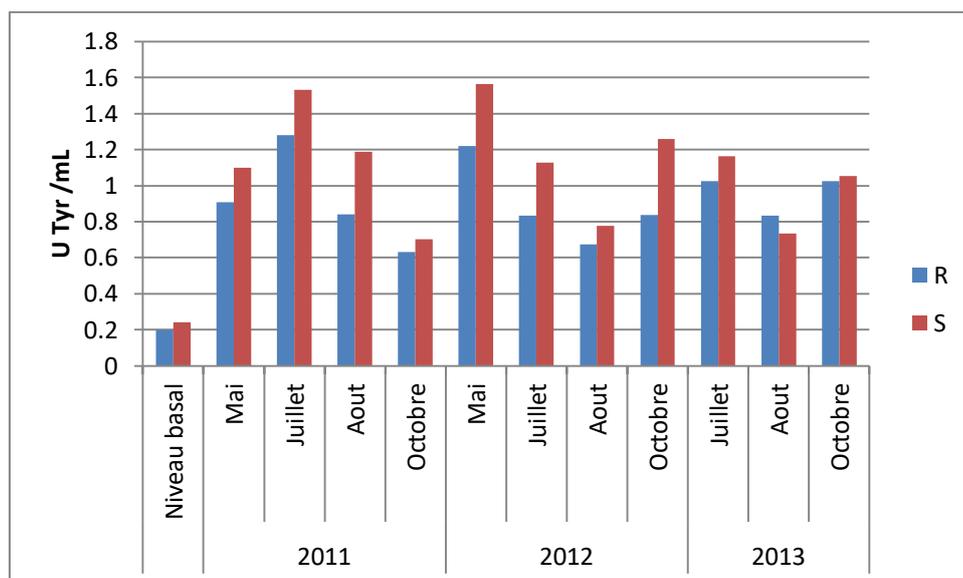


Figure 13 : Moyenne des dosages de pepsinogène sérique des brebis R et S au pâturage

Tableau 19 : Corrélation entre les pepsinogénémies de prélèvements successifs

	Corrélation entre	Coefficient de corrélation	p-value
Année 2011	Mai et Juillet	0.62	< 0.0001
	Juillet et Aout	0.62	< 0.0001
	Aout et Octobre	0.51	< 0.0001
Année 2012	Mai et Juillet	0.44	0.0011
	Juillet et Aout	0.63	< 0.0001
	Aout et Octobre	0.41	0.0029
Année 2013	Juillet et Aout	0.49	0.0009
	Aout et Octobre	0.5	0.0008

**Tableau 20 : Corrélation entre les pepsinogénémies de différentes années**

	Corrélation entre	Coefficient de corrélation	p-value
Mai	2011 et 2012	0.37	0.0053
Juillet	2011 et 2012	0.3	0.0316
	2012 et 2013	0.46	0.0020
	2011 et 2013	0.53	0.0002
Aout	2011 et 2012	0.63	< 0.0001
	2012 et 2013	0.46	0.0017
	2011 et 2013	0.46	0.0020
Octobre	2011 et 2012	0.33	0.0185
	2012 et 2013	0.23	0.1485
	2011 et 2013	0.21	0.1779

**Tableau 21 : Corrélation entre les OPG et les mesures de pepsinogénémie**

Année	Mois	Coefficient de corrélation	p-value
2011	Mai	0.0166	0.9045
	Juillet	-0.0588	0.6727
	Aout	-0.0661	0.6316
	Octobre	-0.0739	0.6024
2012	Mai	0.0561	0.7081
	Juillet	0.0158	0.9105
	Aout	0.243	0.0795
	Octobre	-0.0646	0.6625
2013	Juillet	0.500	0.0010
	Aout	0.0044	0.9775
	Octobre	0.633	<0.0001

- Composition de l'helminthofaune :

Les coprocultures ont permis de préciser quels parasites étaient présents sur les pâtures. Les figures 13 et 14 montrent les proportions de chaque genre de strongle dans les deux groupes de brebis. Les pourcentages ont été obtenus à partir de 105 larves L3 pour les brebis R et 106 pour les brebis S en juillet 2011. Ceux d'octobre 2011 ont été obtenus à partir de 104 larves pour les R et 107 pour les S.

Dans un ordre d'importance décroissante, on trouve le genre *Teladorsagia*, majoritaire en juillet comme en octobre, puis les genres *Trichostrongylus* et *Oesophagostomum* et enfin, très minoritaire, le genre *Haemonchus*. Cette helminthofaune est stable entre juillet et octobre, bien que la proportion d'*Oesophagostomum* diminue fortement en automne.

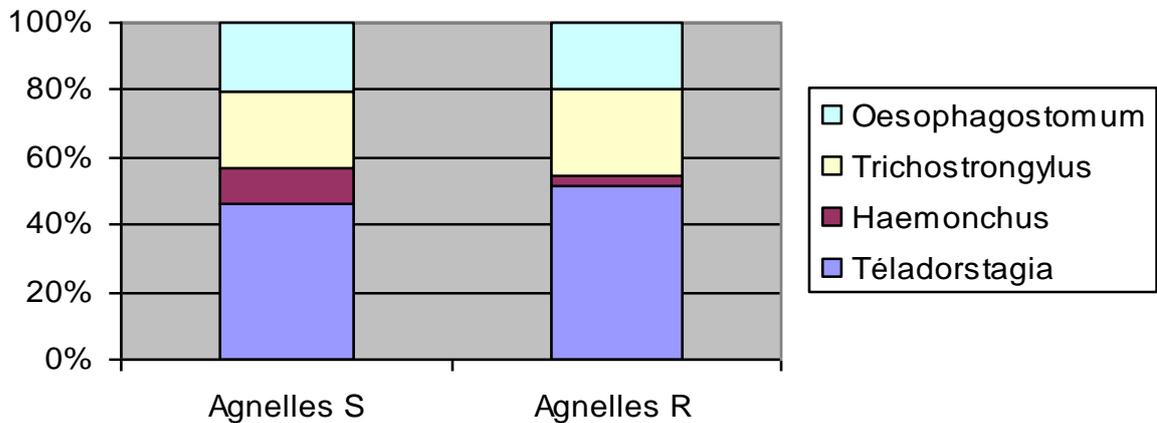


Figure 14 : Composition de l'helminthofaune en juillet 2011

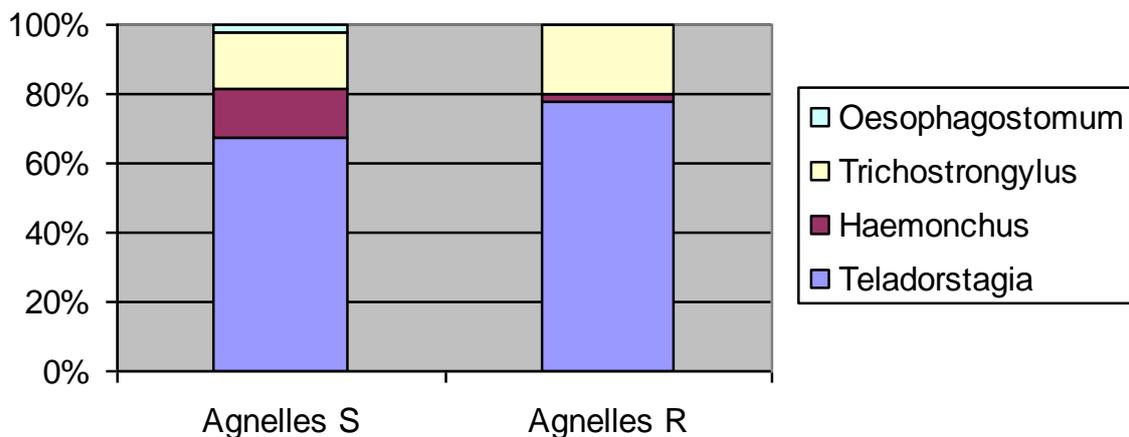


Figure 15 : Composition de l'helminthofaune en octobre 2011

### ***2.3. Infestation expérimentale de fin d'étude***

Les brebis survivantes des deux groupes R et S ont subies à nouveau en 2014 le même protocole d'infestations expérimentales que lors de la phase de sélection en 2011. Les moyennes des OPG des deux groupes sont visibles dans le tableau 22.

On note sur la figure 16 que les deux groupes ne sont plus distincts l'un de l'autre. En effet, il n'existe pas de différence significative en première infestation. En seconde infestation, l'effet du groupe n'est pas significatif ( $p=0.0619$ ), mais une tendance se précise, les brebis R excrétaient moins d'œufs que les brebis S (cf. figure 17). Les groupes initialement formés se reforment partiellement trois ans après leur mise en place. On note cependant en seconde mesure que 6 brebis S ont une excrétion fécale inférieure à 100 OPG, et parmi elles, 4 étaient des brebis dont l'excrétion d'œufs en seconde infestation en 2011 était en dehors de l'intervalle [moyenne – écart type ; moyenne + écart type], à savoir les plus sensibles. On retrouve le même phénomène chez les R avec 5 brebis ayant une excrétion fécale supérieure à 1800 OPG, et parmi elles, 4 étaient des agnelles très résistantes.

Les hématocrites ne présentent pas de différence significative à l'issue de la première infestation. En effet, la moyenne du groupe R est de 30.13 contre 29.83 pour le groupe S ( $p=0.7195$ ). En seconde mesure, on retrouve une tendance à un hématocrite plus élevé chez les brebis R, mais non significative (Ht R = 30.35 ; Ht S = 28.88 ;  $p=0.0791$ )

Tableau 22 : Moyenne, écart-type, médiane et bornes des OPG des brebis R et S obtenus lors de la seconde infestation expérimentale.

	Moyenne OPGR	Ecart type OPGR	Médiane OPGR	Minimum OPGR	Maximum OPGR	Moyenne OPGS	Ecart type OPGS	Médiane OPGS	Minimum OPGS	Maximum OPGS	p-value Effet groupe
Première Infestation	693	980	300	0	3350	1056	1456	500	0	9750	0.4006
Seconde infestation	1182	2034	50	0	6150	3055	3623	1425	50	13350	0.0619

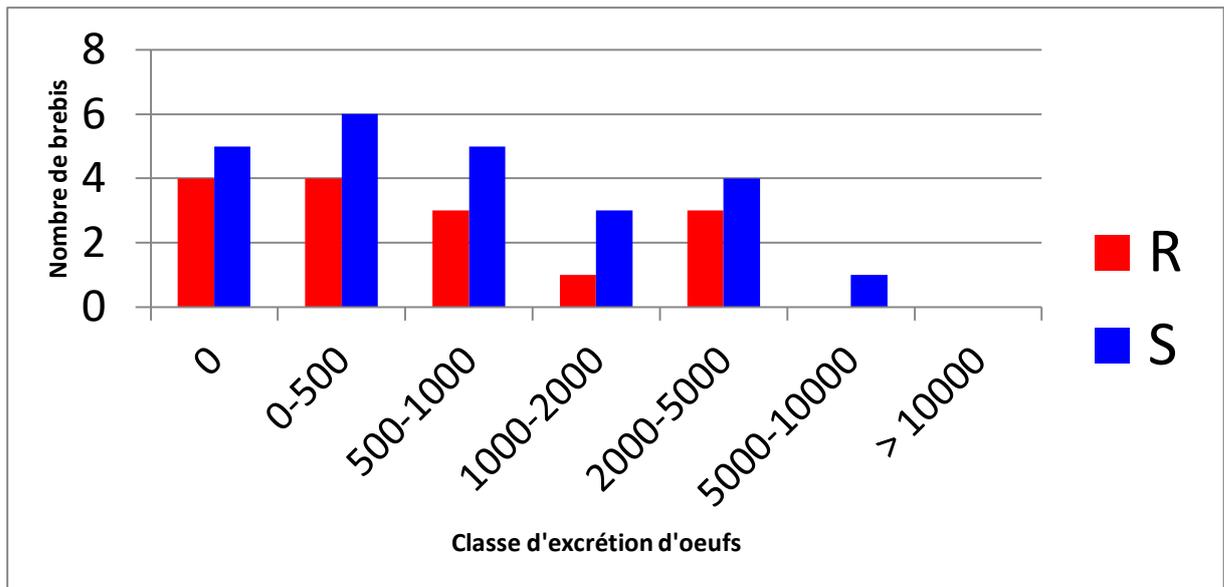


Figure 16 : Répartition des brebis R et S selon la classe d'excrétion d'œufs lors de la deuxième infestation expérimentale, en première mesure

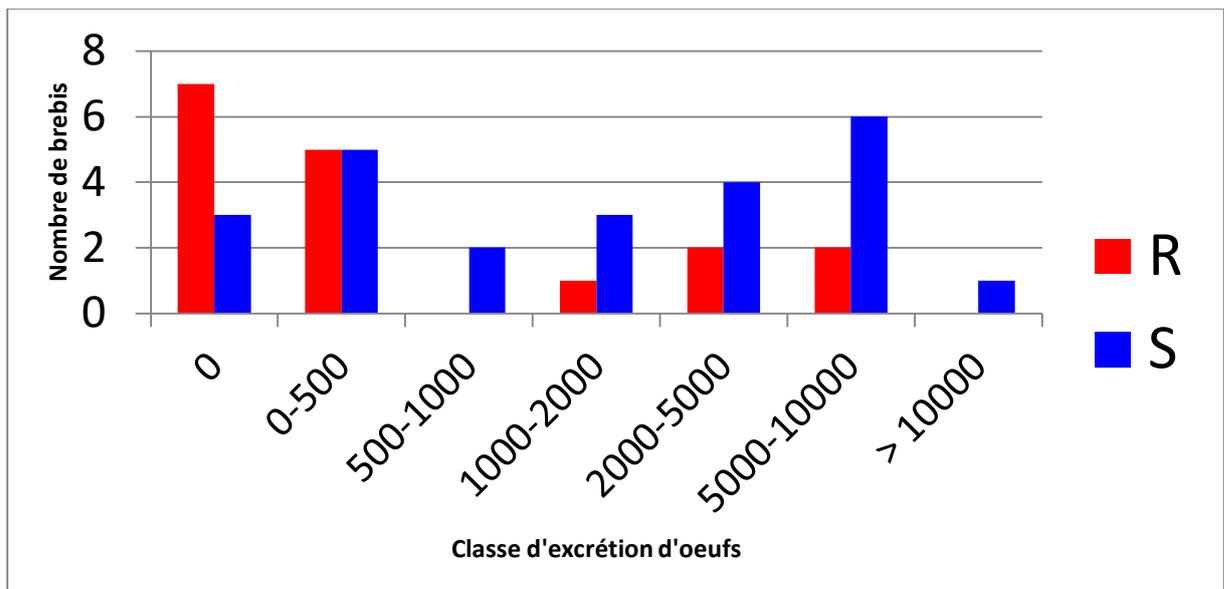


Figure 17 : Répartition des brebis R et S selon la classe d'excrétion d'œufs lors de la deuxième infestation expérimentale, en seconde mesure

## 2.4. Conséquences zootechniques de la sélection

L'effet du groupe R ou S a été analysé sur l'ensemble des mises bas de l'année 2011, 2012 et 2013. Pour la fertilité et la prolificité, une analyse de variance avec un modèle incluant les effets « Groupe » et « Année » a été conduite et les résultats sont résumés dans le tableau 23. On note que pour ces deux paramètres, la sélection n'a aucun effet, bénéfique ou néfaste.

**Tableau 23 : Effet de la sélection sur la prolificité et la fertilité des brebis**

	Fertilité R	Fertilité S	p-value	Prolificité R	Prolificité S	p-value
Année 2011	67.86%	75.00%	0.5625	1.74	1.81	0.6384
Année 2012	70.37%	62.96%	0.5723	2.05	1.76	0.2173
Année 2013	100.00%	96.00%	0.4027	2.22	1.83	0.1329
Sur les 3 saisons	76.70%	77.50%	0.8669	2.00	1.81	0.1133

Le nombre de valeurs utilisées pour les différents paramètres zootechniques des agneaux est indiqué dans le tableau 24. Seulement un poids à la naissance a été transmis en 2011, ne permettant pas de mesures statistiques cette année-là. Les paramètres zootechniques étudiés sont les suivants : poids à la naissance en 2012 et en 2013, GMQ de 0 à 30 jours, GMQ de 30 à 70 jours, durée d'engraissement (de la naissance au départ vers l'abattoir), pourcentage de mâles parmi les agneaux sevrés, mortalité et nombre d'agneaux sevrés par brebis.

**Tableau 24 : Nombre de valeurs utilisées pour les analyses de variance des paramètres zootechniques**

Année	Groupe	Poids naissance	GMQ 0-30	GMQ 30-70	Durée engrais.	% mâles	Mortalité	Nombre de sevrés
2011	R	0	19	18	19	19	19	19
	S	1	28	25	27	27	21	21
2012	R	38	33	26	31	31	19	19
	S	30	25	19	26	26	17	17
2013	R	38	33	27	33	33	18	18
	S	41	38	29	40	40	24	24

Le modèle d'analyse des performances des agneaux inclut :

- Groupe
- Année de naissance
- Sexe de l'agneau
- Taille de la portée

Les résultats sont regroupés dans les tableaux 25, 26 et 27.

**Tableau 25 : Effet de la sélection sur le poids à la naissance et le GMQ à 30 jours**

	Poids de naissance R (kg)	Poids de naissance S (kg)	p-value	GMQ 0-30 R (g/j)	GMQ 0-30 S (g/j)	p-value	GMQ 30-70 R (g/j)	GMQ 30-70 S (g/j)	p-value
Année 2011	/	/	/	201	160	0.0737	288	288	0.7819
Année 2012	4.1	4.2	0.5031	226	234	0.5690	310	316	0.8820
Année 2013	3.8	3.9	0.7267	233	267	0.2755	330	335	0.8217
Sur les 3 saisons	4.0	4.1	0.4219	223	225	0.8045	312	314	0.9228

**Tableau 26 : Effet de la sélection sur la durée d'engraissement et le pourcentage de mâles.**

	Durée engraissement R (j)	Durée engraissement S (j)	p-value	% Mâles R	% Mâles S	p-value
Année 2011	118	131	0.0533	42	33	0.6050
Année 2012	109	113	0.1474	32	65	0.0215
Année 2013	106	103	0.9426	39	50	0.6291
Sur les 3 saisons	109	114	0.0335	37	49	0.1714

**Tableau 27 : Effet de la sélection sur la mortalité et le nombre d'agneaux sevrés par an.**

	Mortalité R (%)	Mortalité S (%)	p-value	Nombre de sevrés R	Nombre de sevrés S	p-value
Année 2011	39	29	0.3434	1.0	1.3	0.1730
Année 2012	18	8	0.2780	1.6	1.6	0.2721
Année 2013	16	11	0.7775	1.8	1.6	0.7068
Sur les 3 saisons	25	16	0.2079	1.48	1.48	0.1760

Il n'existe pas de différence significative entre les deux groupes pour la majorité des paramètres zootechniques étudiés. En 2012, il y a eu une proportion de mâles plus importante chez les agneaux des brebis S que chez ceux des brebis R, mais ce phénomène ne s'est pas reproduit les autres années. De même, en prenant l'ensemble des durées d'engraissement, cette durée est significativement plus importante de 5 jours chez les agneaux nés de brebis S.

### **3. Discussion**

#### **3.1. Sélection des agnelles sensibles et résistantes**

On note une grande variabilité d'excrétion d'œufs parmi ces 104 agnelles, certaines excrétaient très peu, d'autres atteignant des valeurs très élevées (maximum de 9750 OPG). Ce phénomène a déjà été noté dans la littérature. C'est par ailleurs l'observation qui a initié l'idée d'une sélection génétique contre les strongles gastro-intestinaux (Jacquiet et al. 2009)

##### **3.1.1. Choix des agnelles et du lieu de l'étude**

L'étude s'est déroulée dans son intégralité à Mazeyrat d'Allier en Haute Loire. L'altitude moyenne de la commune est de 620 mètres, ce qui en fait une commune de moyenne montagne. La hauteur de précipitation mensuelle est d'environ 20 millimètres en hiver et 100 millimètres à la belle saison. Les températures de l'été contrastent avec les valeurs négatives atteintes en hiver. Ces variations font que les parasites sont plus susceptibles d'être exposés à des températures très basses ne permettant pas leur survie pendant l'hiver. Le climat n'est donc possiblement pas optimal au niveau de cette structure pour obtenir des infestations naturelles massives.

L'intérêt de notre étude est d'avoir choisi d'utiliser des agnelles non issues de lignées divergentes, c'est-à-dire de parents sélectionnés. Si un tel programme de sélection voit le jour au niveau national, les premiers animaux ne seront pas issus de parents sélectionnés. Lors de leur mise en place dans les différents élevages, ces premiers animaux seront mis à la reproduction avec des animaux qui ne sont pas nécessairement sélectionnés. L'ensemble de ces premières générations d'animaux soumis aux infestations expérimentales, en vue de déterminer leur statut génétique vis-à-vis des strongles, sera donc issu de lignées non divergentes. C'est pourquoi dans le cadre de l'étude, les agnelles choisies n'ont pas été issues de lignées divergentes, pour représenter ces animaux initiateurs d'un programme de sélection. Ce choix est d'autant plus intéressant que la littérature ne présente que très peu de suivi aussi long d'animaux sélectionnés issus de lignées non divergentes. Une des rares études s'en rapprochant est celle de Gruner et al. en 2002. Cette étude de 4 ans s'est intéressée à l'évolution des populations de strongles suite au pâturage de béliers INRA 401 résistants ou sensibles aux strongles. Ces béliers ont été infestés avec un mélange d'espèces (60% *Teladorsagia circumcincta*, 40% *Trichostrongylus colubriformis*) et sont issus de parents dont le statut génétique contre les strongles est inconnu. Cependant, les animaux ont pâture sur des parcelles différentes, ce qui distingue cette expérimentation de celle présentée ici.

Uniquement des femelles ont été incluses dans le protocole. La cohabitation mâle/femelle sur une parcelle n'a lieu qu'au moment de la lutte. Inclure les deux sexes dans l'étude aurait donc contraint la séparation des effectifs en deux sous-groupes selon leur sexe pendant une grande partie de l'année. Or, l'un des objectifs principaux de la manipulation était de laisser l'ensemble des animaux sur la même pâture.

Cependant, si une sélection devait se faire, et que le critère de discrimination pour sélectionner les individus était l'intensité d'excrétion fécale, il faudrait prendre en compte le coût unitaire (environ 10€) d'une coproscopie, le temps de réalisation et donc les effectuer sur un nombre d'animaux le plus limité possible. C'est pourquoi il est à penser que les mâles, distribuant de nombreuses doses de semence pour les inséminations artificielles, seront les animaux sélectionnés. En effet, peu de béliers produisent beaucoup de paillettes servant à inséminer un grand nombre de brebis. La diffusion des gènes responsables de la résistance serait plus rapide, et à moindre coût (Jacquet et al. 2011).

Pour ce qui est de l'âge des agnelles, les premières infestations ont eu lieu sur des animaux âgés de 3 mois environ. Certains auteurs estiment que l'immunité n'est complètement acquise contre les strongles qu'après 5 à 7 mois (Sutherland et Scott 2009). Il est possible que le système immunitaire des agnelles n'était pas assez compétent et que certaines brebis auraient eu un tout autre classement si la phase de sélection avait eu lieu quelques mois plus tard. La question sera de nouveau abordée en section 3.3.

### ***3.1.2. Choix du protocole de sélection***

Le paramètre phénotypique choisi a été l'excrétion fécale d'œufs suite à une infestation expérimentale. Il existe d'autres protocoles comme une évaluation de l'immunité par dosage d'anticorps spécifiques des antigènes de certains parasites. Ces caractères sont moins héritable (h<sup>2</sup> = 0.08 à 0.18 à 6 mois), bien que l'hérabilité augmente (h<sup>2</sup> = 0.29 à 0.43) après une saison entière au pâturage, et donc une longue exposition aux parasites. En sélectionnant sur des dosages d'anticorps, la diminution de l'excrétion fécale d'œufs est estimée à 60% de la diminution obtenue en sélectionnant directement sur les mesures d'excrétion fécale en infestation expérimentale (Beh et Maddox 1996). Une autre immunité est évaluée à l'aide d'un dispositif élaboré en Nouvelle-Zélande. Un prélèvement de salive est réalisé et un dosage des anticorps contre les antigènes CarLA (Carbohydrate Larval Antigens) est réalisé. Ce sont des antigènes de surface présents chez l'ensemble des représentants de la famille des Trichostrongylidae, dont font partis les strongles gastro-intestinaux. L'intensité de cette réponse est négativement corrélée au nombre d'OPG, et est

héritable ( $h^2 = 0.3$ ). Là encore, une exposition de 6 à 8 mois est réalisée en pratique pour laisser le temps à l'immunité de se mettre en place (Jacquet et al. 2011; Shaw et al. 2012).

C'est pourquoi le choix d'infestation expérimentale et d'évaluation de l'excrétion fécale d'œufs est le schéma préféré car il ne nécessite pas d'attente de plusieurs mois et peut être réalisé rapidement après le sevrage. Il a été prouvé qu'une infestation de jeunes agneaux induit une réponse précoce. (Lacroux et al. 2006)

Les agnelles ont été infestées avec des larves L3 du parasite *Hæmonchus contortus*. Il a été noté que ce parasite n'est pas l'espèce majoritaire retrouvée chez les animaux de l'étude. Cependant, des corrélations positives entre la résistance à *H. contortus* et à *T. colubriformis* chez des moutons Mérinos et INRA 401 ont été démontrées (Woolaston et al. 1990; Gruner et al. 2004a). D'autres parasites ont été utilisés dans la littérature. En effet, dans l'étude de Gruner de 2002 citée précédemment, se rapprochant de la nôtre, 12000 larves infestantes de l'espèce *Teladorsagia circumcincta* et 8000 larves de *Trichostrongylus colubriformis* ont été administrées aux moutons. La corrélation entre la résistance à *T. circumcincta* et la résistance à *H. contortus* n'ayant pas été prouvée, un mélange de parasites dans les infestations expérimentales pourrait trouver un intérêt pour augmenter le spectre de résistance des animaux. *Teladorsagia circumcincta* est le parasite le plus représenté dans l'étude donc potentiellement le moins bien régulé. Il est possible qu'une corrélation existe mais n'ait pas été démontrée à ce jour.

Le choix de réaliser deux infestations espacées d'un traitement et de 15 jours, puis de sélectionner sur la seconde excrétion fécale est également à discuter. La valeur d'excrétion fécale est plus héritable en seconde mesure dans la race Manech. L'héritabilité est de 0.11 sur la première infestation, contre 0.34 en seconde. On retrouve ces résultats avec les héritabilités de la diminution d'hématocrite : 0.13 en première infestation contre 0.18 en seconde (Astruc et al. 2016). D'autre part, des agneaux ayant déjà été infestés montrent que lors d'une seconde infestation, la réponse immunitaire est d'intensité similaire à celle retrouvée lors d'une primo-infestation, mais plus précoce. On note également une diminution de la vitesse de développement des larves de strongles, de la fécondité des femelles et de l'excrétion fécale chez ces animaux déjà infestés (Lacroux et al, 2006). Ces adaptations permettent de diminuer l'excrétion fécale d'œufs, et font parties de la résistance de l'hôte aux strongles. Sélectionner sur la première mesure d'excrétion fécale n'aurait pas permis de prendre en compte ces adaptations. Le parti pris au cours de cette expérimentation a été de privilégier l'immunité adaptative à l'immunité innée. En effet, chaque année, les agnelles seront confrontées aux parasites et « apprendront » à se défendre. C'est ce mécanisme qui a été recherché et qui inclut indirectement l'immunité innée également.

Il existe de courtes séquences de bases appelées Quantitative Trait Loci ou QTL. Ces séquences sont choisies pour être associées à un paramètre recherché. Dans des croisements backcross Martinik Black Belly X Romane, 5 QTL associés à de faibles OPG et d'autres paramètres (pepsinogène notamment) ont été identifiés comme ayant un effet significatif (Sallé et al. 2012). L'un d'eux situé sur le chromosome 12 explique 4% de la variabilité des OPG. Il a de plus été retrouvé dans un autre croisement Martinik Black Belly X Romane indépendant du premier et dans des races telles que la Lacaune, le mouton Merinos et le mouton de Soay (Sallé et al. 2014). De nombreuses autres études ont identifié des QTL dans différentes espèces, associés en plus des OPG à des paramètres de production ou immunitaires. Cependant, il n'existe pas, à la connaissance de l'auteur, d'étude ayant détecté des QTL chez les brebis Blanc du Massif Central. Il est possible qu'un jour, on en découvre, mais pour le moment il est impossible de réaliser de sélection génomique sans avoir vérifié l'existence interrassiale de ces QTL, qui n'est pas systématique.

### ***3.2. Suivi parasitologique sur trois saisons de pâture***

#### ***3.2.1. Intensités d'excrétion fécale d'œufs de strongles gastro-intestinaux***

L'effet de la sélection effectuée est significatif au cours de la première saison de pâture. Malgré une tendance à une excrétion moindre chez les brebis R pour le reste de l'étude, la différence n'est pas significative. Il est cependant possible que le test statistique utilisé ne permette pas de détecter cette différence. La première raison serait qu'il n'existe en effet pas de différence significative entre les deux groupes. Une autre possibilité est que la perte d'animaux ait diminué la puissance de détection du test statistique. De même, la procédure GLM utilisée ici est moins puissante qu'un test d'analyse de variance (ANOVA) classique. Par exemple, lors de la première année de pâture, avec un test non paramétrique, la p-value est inférieure à 0.05 pour les mois de juillet et d'octobre, alors que seul le mois de juillet l'est en procédure GLM. Mais cette analyse ne tolère pas de données non équilibrées. C'est pourquoi le test GLM a été préféré pour l'étude.

D'autres études rapportent une différence entre des groupes R et S persistant sur 3 ans mais sur pâtures séparées. Au cours de cette étude, la contamination des pâtures a été étudiée et la charge parasitaire des pâtures R était moins importante que celle des S, car ils étaient moins excréteurs (Gruner et al. 2002). Ici, la charge parasitaire de la pâture n'a pas été étudiée mais les excréments étant faibles chez les deux groupes, il est très probable que cette contamination était très limitée, excepté peut-être en octobre 2011, en août et en octobre 2013. De ce fait, les moutons S ne pouvaient pas excréter de nombreux œufs, compte tenu de cette faible contamination. Il est de

toute façon à noter que l'impact pathologique des parasites est majoritaire durant le jeune âge des animaux, et que ce sont ces animaux qui participent grandement à la contamination des pâtures. Une réduction significative de l'excrétion fécale chez des animaux résistants pendant leur première année de pâturage est donc un intérêt épidémiologique majeur.

Une autre observation intéressante notamment en 2011 et 2013 est la corrélation des valeurs d'OPG d'une mesure à l'autre. Il existe une corrélation positive entre des mesures successives prouvant qu'une brebis qui commence l'année avec une excrétion faible aura tendance à garder une excrétion faible pour le reste de l'année.

Comme mentionné précédemment, un traitement antiparasitaire a été administré en dehors du cadre de l'étude par le responsable du troupeau en juillet 2011. Celui-ci explique les excrétions d'œufs assez faibles retrouvées en août 2011. Cependant, il est à noter que le site de FEDATEST n'est pas une station expérimentale mais une station de sélection, qui délègue une partie de son troupeau à des chercheurs. Il est donc primordial pour eux d'obtenir des agnelles en bonne santé, fertiles et produisant des agneaux qui sont le produit final sur la station. On sait par ailleurs que la fertilité d'un animal dépend de sa note d'état corporel, et qu'une strongylose importante fait perdre de l'état à un animal. C'est pourquoi au cours de la première année, le responsable du troupeau a traité sans notre consentement. Par la suite, les traitements n'ont été réalisés que selon le calendrier établi.

L'année 2012 est tout à fait à part dans notre étude. En effet lors des corrélations entre les différentes années pour un mois spécifique, majoritairement la corrélation est significative entre 2011 et 2013 mais pas avec 2012. On observe de plus une excrétion d'œufs plus faible comparée aux autres années à la même période. On peut voir en figure 18 que l'hiver 2012 et notamment le mois de février a été très froid et très sec, sans manteau neigeux pouvant protéger les parasites. Ces conditions climatiques plus extrêmes ont pu conduire les pâtures à se dépeupler de strongles conduisant aux faibles excrétions notées le reste de l'année. Associé à cela le traitement antiparasitaire reçu avant la mise à l'herbe, le réservoir parasitaire cette année-là a été très limité.

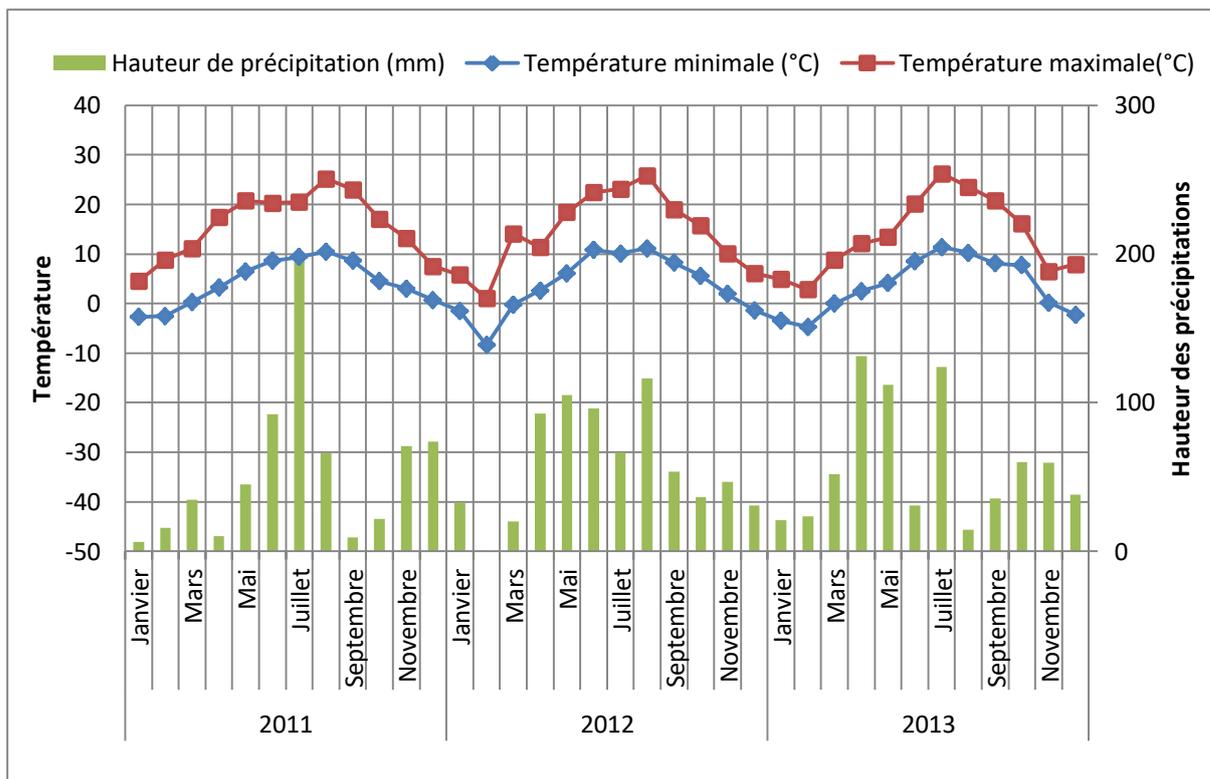


Figure 18 : Températures et précipitations durant les années 2011, 2012 et 2013 à la station météorologique Le Puy - Loudes (d'après Météo France)

### 3.2.2. Hématocrite

Compte tenu de l'absence de différence significative sur l'ensemble des tests effectués entre les deux groupes, les informations apportées par les mesures d'hématocrite sont plus modestes. En effet, la sélection ne semble pas impacter les valeurs d'hématocrite. Les corrélations existantes sont en moyenne plus significatives entre les valeurs de juillet et d'août. Les autres valeurs ne semblent que peu corrélées, ou de façon non significative, exceptée celles l'année 2011 significative dans leur ensemble. On retrouve cependant que l'année 2012 semble être différente de 2011 et 2013, bien que cela soit moins net que pour les OPG. On note que les corrélations entre 2011 et 2013 sont en moyenne plus significatives que celles entre 2011 et 2012, ou 2012 et 2013.

Rappelons que le parasite majoritaire est *Teladorsagia circumcincta* qui est un parasite de la caillette principalement histophage et dans une moindre mesure hématophage. Son impact sur l'hématocrite est donc moins net que pour un parasite exclusivement hématophage comme *H. contortus*. Or ce dernier est mineur dans notre étude. C'est pourquoi ce paramètre a été moins intéressant que d'autres.

### **3.2.3. Pepsinogène**

L'étude du pepsinogène sérique a montré de nombreuses différences significatives entre les deux groupes. En effet, on note qu'excepté l'année 2013 et le mois d'octobre, toutes les périodes présentent des p-values très faibles, les brebis R ayant en moyenne des valeurs de pepsinogène sanguin plus faibles que les brebis S. On sait que le parasite majoritaire dans notre étude est *Teladorsagia circumcincta*. Les lésions de la caillette engendrées par ce parasite permettent un passage du pepsinogène dans le sang et augmentent donc le taux de pepsinogène sérique. Cette mesure semble donc être une variable plus sensible de détection de strongylose gastrique que les OPG, puisqu'il est possible de détecter des différences significatives dans l'une et non dans l'autre. Est-elle pour autant spécifique ? Toute lésion gastrique peut entraîner une augmentation de la pepsinogénémie. Cependant, quelle lésion existerait chez les brebis S qui n'existerait pas chez les R ? Il est très probable que l'impact du parasite sur la muqueuse gastrique est moindre chez les brebis R que chez les S, au moins pendant les deux premières saisons d'exposition.

Il n'existe pas de corrélation significative entre les mesures de pepsinogène et les OPG dans notre étude. Cela veut dire que les lésions conduisant à l'augmentation de pepsinogène sérique et la quantité d'œufs excrétés sont dues à deux phénomènes. *Trichostrongylus colubriformis* pond en effet des œufs mais n'augmente pas la quantité de pepsinogène. Il en est de même pour *Oesophagostomum sp.* Ces œufs s'ajoutent aux précédents et seraient probablement responsables de la non corrélation des mesures des deux variables.

On retrouve la corrélation entre les mesures successives mise en évidence avec les OPG pour cette variable. En effet, toutes les p-values sont inférieures à 0.003. Une brebis commençant l'année avec peu de pepsinogène circulant restera avec un pepsinogène sérique faible tout au long de l'année. On note également des corrélations entre années pour mai, juillet et août. Il semblerait qu'un animal ayant présenté des lésions gastriques une année gardera une pepsinogénémie plus importante que les autres les années suivantes.

Le dosage de pepsinogène sérique est un indicateur très compliqué à interpréter. En effet, on note en 2012 des moyennes de pepsinogène voisines de celles de 2011, alors que les pâtures sont très peu parasitées. Que conclure de cette différence significative entre le groupe R et le groupe S, alors qu'il y a très peu de nématodes sur la parcelle ? Il faut donc rester prudent dans l'interprétation de cette variable qui n'est aujourd'hui pas complètement comprise.

### ***3.3. Infestation expérimentale de fin d'étude***

Le résultat de cette infestation expérimentale se rapproche de la première. Lors de la première mesure, les animaux ne retrouvent pas le phénotype qu'ils avaient à l'issue de l'infestation de 2011. Mais en seconde mesure, la majorité des animaux retrouve ce phénotype. Cependant, quelques animaux ne retrouvent pas le même phénotype qu'en 2011. Mais l'infestation s'est déroulée de la même façon que celle ayant permis la sélection initiale. Ceci implique qu'une évolution s'est faite chez les animaux dans l'expression immunitaire ou génétique. Un premier groupe d'animaux qui était sensible à très sensible s'est retrouvé très peu excréteur d'œufs. On peut plus facilement expliquer ce phénomène comme une « erreur de sélection sur système immunitaire immature ». En regardant plus en détails les valeurs de ces animaux divergents (cf. tableau 28), on note que ces brebis S n'ont jamais eu d'OPG très élevés, ceci appuyant l'hypothèse d'un biais de sélection. Rappelons que le système immunitaire des agneaux contre les strongles n'est pleinement efficace qu'à l'âge de 5 à 7 mois (Sutherland et Scott 2009). Quant aux brebis R devenues sensibles, elles n'ont jamais eu d'OPG très élevés au cours de leurs saisons en pâture. Trois sur cinq ont même une excrétion fécale faible sur la première mesure de l'infestation expérimentale 2014. Aucune explication satisfaisante ne peut être apportée pour comprendre ce phénomène.

Tableau 28 : Excrétion fécale des animaux divergents au cours de la seconde infestation expérimentale

		Infestation exp 1		2011				2012			
		1ère mesure	2nde mesure	Mai	Juillet	Aout	Octobre	Mai	Juillet	Aout	Octobre
R	10080	750	600	50	15	30	350	200	15	15	0
	10104	3350	200	180	50	15	300	50	150	150	0
	10123	4850	350	30	250	100	350	0	50	15	50
	10125	800	1150	200	15	0	500	100	700	200	15
	10231	300	50	45	200	300	1500	0	650	550	1000
S	10019	3100	4500	120	75	60	100	50	15	250	550
	10075	3300	9750	30	105	0	250	150	350	0	15
	10133	3200	3500	225	200	15	800	100	100	200	15
	10201	1150	3150	75	150	0	Absente	Absente	250	50	0
	10791	2800	5750	100	50	60	Absente	100	200	1100	Absente
	10808	6300	4100	0	200	150	100	Absente	400	100	50

		2013			Infestation exp 2	
		Juillet	Aout	Octobre	1ère mesure	2nde mesure
R	10080	0	150	50	150	2100
	10104	0	1350	Absente	300	6150
	10123	0	450	Absente	3300	1850
	10125	0	1700	550	50	5550
	10231	0	700	750	2500	3650
S	10019	0	200	1250	150	0
	10075	0	50	500	200	100
	10133	150	1250	2100	2450	0
	10201	0	200	100	350	100
	10791	0	800	1300	3250	0
	10808	350	200	.	0	15

### ***3.4. Conséquences zootechniques***

L'étude montre, comme la littérature, que la sélection n'a pas d'effet sur les paramètres zootechniques mesurés (Vanimisetti et al. 2004; Liu et al. 2005). Faire pâturer des troupeaux sensibles et résistants ensemble n'impacte pas les performances des brebis. Les résultats de l'étude ne montrent pas non plus de différence significative entre les poids, les GMQ et la mortalité des agneaux. L'unique différence significative concerne la durée d'engraissement des agneaux qui est moins longue de 5 jours s'ils sont issus d'une mère R. Cependant, cette durée a été calculée comme la différence entre la date de départ de l'élevage d'un agneau et sa date de naissance. Cela implique donc qu'il n'y a pas nécessairement de normalisation des poids concernant cette durée. En effet, bien que les départs vers l'abattoir se fassent à poids plus ou moins constant, il n'y a pas eu de pesée avant départ qui permettrait de pondérer cette durée. Cette différence de 5 jours est donc à vérifier avec des études plus précises.



## ***Conclusion***

Depuis des années, les résistances des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques se propagent dans les élevages et continueront si des alternatives aux traitements systématiques ne sont pas développées. La sélection d'individus résistants à ces strongles semble être une solution prometteuse qui permettrait de diminuer, voire de se passer de traitements, dans la race Blanc du Massif Central.

L'étude menée à la station de sélection Fedatest, à Mazeyrat d'Allier, permet de conclure qu'une sélection phénotypique sur l'intensité de l'excrétion fécale est possible en région montagneuse où *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis* sont les parasites majeurs. Au cours des trois années de pâturage, l'avantage de la sélection n'est significatif que la première année dans cette étude pour l'excrétion fécale. On note également qu'une sélection permet de diminuer les lésions gastriques reflétées par le dosage de pepsinogène sérique, et ce pendant les trois ans de pâture. Aucune différence d'hématocrite ne s'est révélée significative tout au long de l'étude.

Ces différences sont présentes dès la première génération d'animaux sélectionnés. Elles permettent une protection accrue pendant le jeune âge des animaux. Cependant, les pressions parasitaires de l'élevage dans lequel cette étude s'est déroulée étant très faibles, des différences ont pu être masquées par le manque de nématodes dans les pâtures.

Enfin, la sélection n'entraîne pas d'effet délétère sur les principaux paramètres zootechniques. La fertilité, la prolificité, la mortalité, les GMQ ainsi que le nombre d'agneaux sevrés par brebis n'est pas impacté en bien comme en mal par la sélection. On note un raccourcissement de 5 jours de la durée d'engraissement chez les animaux résistants.

Dans l'avenir, une sélection génomique pourrait voir le jour. Des QTL associés à la résistance aux strongles ont déjà été identifiés dans certaines races. Ces QTL pourront permettre une sélection plus rapide, chez des animaux plus jeunes. Mais l'existence de ces QTL est à vérifier pour chaque race, ce qui rend le travail long et coûteux. Ce travail n'a pour le moment pas été réalisé dans la race Blanc du Massif Central.

Une adaptation des nématodes à cette sélection a été étudiée. Les modélisations à un *locus* semblent montrer, bien qu'elle soit possible, que cette adaptation est très peu probable (Kemper et al. 2013). Des modélisations à plusieurs *loci* sont nécessaires pour préciser cela. En attendant, une surveillance clinique et coproscopique des animaux sélectionnés devra être maintenue régulièrement.



**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussigné, Philippe JACQUIET, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **SALVE Florian** intitulée « **Evolution sur trois années des infestations parasitaires naturelles chez des brebis Blanc du Massif Central résistantes ou sensibles aux strongles gastro-intestinaux.** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 29 septembre 2016  
Professeur Philippe JACQUIET  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Gérard CAMPISTRON



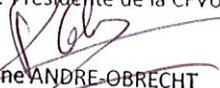
M. SALVE Florian  
a été admis(e) sur concours en : 2011  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 25/06/2015  
a validé son année d'approfondissement le : 07/07/2016  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu :  
La Directrice de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Isabelle CHMITELIN



Vu et autorisation de l'impression :  
Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Monsieur Jean-Pierre VINEL

Le Président de l'Université Paul Sabatier  
par délégation,  
La Vice-Présidente de la CFVU

  
Régine ANDRE-OBRECHT



## ***Bibliographie***

- ASTRUC, JM., FIDELLE, F., GRISEZ, C., PREVOT, F., AGUERRE, S, MORENO, C. et JACQUIET, P.  
Phenotyping and selecting for genetic resistance to gastro-intestinal parasites in sheep: the case of the Manech French dairy sheep breed.  
In : *Proceedings of the 40th ICAR Session*. Puerto Varas (Chili). 24-28 octobre 2016.
- BARTRAM, D., LEATHWICK, D., TAYLOR, M., GEURDEN, T. et MAEDER, S.  
The role of combination anthelmintic formulations in the sustainable control of sheep nematodes.  
*Veterinary Parasitology*. 2012. Vol. 186, n° 3-4, pp. 151-158.
- BEH, K. J. et MADDOX, J. F.  
Prospects for development of genetic markers for resistance to gastrointestinal parasite infection in sheep.  
*International Journal for Parasitology*. 1996. Vol. 26, n° 8-9, pp. 879-897.
- BOICHARD D.  
Production et fertilité chez la vache laitière.  
In : *Commission bovine*. Draveil. 2000. pp. 33-34.
- BONNEFONT, Marie et CANELLAS, Amandine.  
*Optimisation des outils de diagnostic des strongyloses gastro-intestinales des ovins*.  
Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT. 2014. 133p.
- CHARTIER, C., PORS, I., HUBERT, J., ROCHETEAU, D., BENOIT, C. et BERNARD, N.  
Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France.  
*Small Ruminant Research*. 1998. Vol. 29, n° 1, pp. 33-41.
- DE LA CHEVROTIÈRE, C., MORENO, C., JAQUIET, P. et MANDONNET, N.  
La sélection génétique pour la maîtrise des strongyloses gastro-intestinales des petits ruminants.  
*Productions Animales*. 2011. Vol. 24, n° 3, pp. 221-234.
- DORCHIES, P., ALZIEU, JP., BRARD, C., CAMUSET, P., JACQUIET, P. et HOSTE, H.  
Appréciation du risque parasitaire des ovins et des bovins : ne pas manquer le rendez-vous de la saison d'herbe.  
In : *Journée nationale des GTV*. Nantes. 2003. pp. 171-186.
- DORNY, P. et VERCRUYSE, J.  
Evaluation of a micro method for the routine determination of serum pepsinogen in cattle.  
*Research in Veterinary Science*. 1998. Vol. 65, n° 3, pp. 259-262.
- DRUDGE, J. H., LELAND, S. E. et WYANT, Z. N.  
Strain variation in the response of sheep nematodes to the action of phenothiazine. II. Studies on pure infections of *Haemonchus contortus*.  
*American Journal of Veterinary Research*. 1957. Vol. 18, n° 67, pp. 317-325.
- ESLAMI, A., RANJBAR-BAHADORI, S., ZARE, R. et RAZZAGHI-ABYANEH, M.  
The predatory capability of *Arthrobotrys cladodes* var. *macroides* in the control of *Haemonchus contortus* infective larvae.  
*Veterinary Parasitology*. 2005. Vol. 130, n° 3-4, pp. 263-266.

FALZON, L.C., O'NEILL, T.J., MENZIES, P.I., PEREGRINE, A.S., JONES-BITTON, A., VANLEEUVEN, J. et MEDEROS, A.

A systematic review and meta-analysis of factors associated with anthelmintic resistance in sheep. *Preventive Veterinary Medicine*. 2014. Vol. 117, n° 2, pp. 388-402.

FAWZI, E.M., GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, M.E., CORRAL, M.J., ALUNDA, J.M et CUQUERELLA, M.

Vaccination of lambs with the recombinant protein rHc23 elicits significant protection against *Haemonchus contortus* challenge.

*Veterinary Parasitology*. 2015. Vol. 211, n° 1-2, pp. 54-59.

GEURDEN, T., HOSTE, H., JACQUIET, P., TRAVERSA, D., SOTIRAKI, S., FRANGIPANE DI REGALBONO, A., TZANIDAKIS, N., KOSTOPOULOU, D., GAILLAC, C., PRIVAT, S., GIANGASPERO, A., ZANARDELLO, C., NOÉ, L., VANIMISETTI, B. et BARTRAM, D.

Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy.

*Veterinary Parasitology*. 2014. Vol. 201, n° 1-2, pp. 59-66.

GILL, H. S., COLDITZ, I. G. et WATSON, D. L.

Immune responsiveness of lambs selected for resistance to haemonchosis.

*Research in Veterinary Science*. 1993. Vol. 54, n° 3, pp. 361-365.

GRAY, G. D.

The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism.

*Veterinary Parasitology*. 1997. Vol. 72, n° 3, pp. 345-366.

GRUNER, L., BOUIX, J. et VU TIEN KHANG, J.

La résistance génétique aux parasitoses internes: exemples de travaux engagés en France et en Pologne.

*Le Point Vétérinaire*. 1998. Vol. 29, n° 195, pp. 1129-1137.

GRUNER, L., CORTET, J., SAUVE, C., LIMOUZIN, C. et BRUNEL, J. C.

Evolution of nematode community in grazing sheep selected for resistance and susceptibility to *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*: a 4-year experiment.

*Veterinary parasitology*. 2002. Vol. 109, n° 3, pp. 277-291.

GRUNER, L., AUMONT, G., GETACHEW, T., BRUNEL, J. C., PERY, C., COGNIÉ, Y. et GUÉRIN, Y.

Experimental infection of Black Belly and INRA 401 straight and crossbred sheep with trichostrongyle nematode parasites.

*Veterinary Parasitology*. 2003. Vol. 116, n° 3, pp. 239-249.

GRUNER, L., BOUIX, J. et BRUNEL, J.C.

High genetic correlation between resistance to *Haemonchus contortus* and to *Trichostrongylus colubriformis* in INRA 401 sheep.

*Veterinary Parasitology*. 2004a. Vol. 119, n° 1, pp. 51-58.

GRUNER, L., BOUIX, J., VU TIEN KHANG, J., MANDONNET, N., EYCHENNE, F., CORTET, J., SAUVÉ, C. et LIMOUZIN, C.

A short-term divergent selection for resistance to *Teladorsagia circumcincta* in Romanov sheep using natural or artificial challenge.

*Genetics Selection Evolution*. 2004b. Vol. 36, n° 2, pp. 217-242.

- HENDERSON, N.G. et STEAR, M.J.  
Eosinophil and IgA responses in sheep infected with *Teladorsagia circumcincta*.  
*Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2006. Vol. 112, n° 1-2, pp. 62-66.
- HOSTE, H., HUBY, F. et MALLET, S.  
Strongyloses gastro-intestinales des ruminants : conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques.  
*Le Point Vétérinaire*. 1997. Vol. 28, pp. 53-59.
- JACQUIET, P., BARILLET, F., BOUIX, J., FRANCOIS, D., MORENO, C. et TEREFE, G.  
La résistance génétique des ovins aux strongles gastro-intestinaux.  
*Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 2009. Vol. 162, n° 1, pp. 39-46.
- JACQUIET, P., FIDELLE, F., GRISEZ, C., PREVOT, F., LIENARD, E., BERGEAUD, JP., SICARD, S., BARILLET, F. et ASTRUC, JM.  
Sélection sur phénotypes de la résistance aux strongles gastro-intestinaux en centre d'élevage de béliers.  
In : *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants*. Paris. 2011. pp. 343-346.
- JACQUIET, P., 2012.  
Vaccination contre les helminthes : état des lieux.  
*Le Point vétérinaire*. 2012. Vol. spécial rurale, n° Parasitologie interne des ruminants, pp. 134-136.
- JEFFCOATE, I. A., WEDRYCHOWICZ, H., FISHWICK, G., DUNLOP, E. M., DUNCAN, J. L. et HOLMES, P. H.  
Pathophysiology of the periparturient egg rise in sheep: a possible role for IgA.  
*Research in Veterinary Science*. 1992. Vol. 53, n° 2, pp. 212-218.
- KAPLAN, R.M.  
Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report.  
*Trends in Parasitology*. 2004. Vol. 20, n° 10, pp. 477-481.
- KERBOEUF, D.  
Changes in pepsinogen, proteins and lipids in the serum during experimental haemoncosis in sheep.  
*Annals of Veterinary Research*. 1977. Vol. 8, n° 3, pp. 257-266.
- KEMPER, K.E., GODDARD, M.E et BISHOP, S.C.  
Adaptation of gastrointestinal nematode parasites to host genotype: single locus simulation models.  
*Genetics Selection Evolution*. 2013. Vol. 45, pp. 1-14.
- LACROUX, C., NGUYEN, TH., ANDREOLETTI, O., PREVOT, F., GRISEZ, C., BERGEAUD, JP., GRUNER, L., BRUNEL, JC., FRANCOIS, D., DORCHIES, P. et JACQUIET, P.  
*Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response.  
*Veterinary Research*. 2006. Vol. 37, n° 4, pp. 607-622.
- LARSEN, M., FAEDO, M., WALLER, P. J. et HENNESSY, D. R., 1998.  
The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: studies with *Duddingtonia flagrans*.  
*Veterinary Parasitology*. 1998. Vol. 76, n° 1-2, pp. 121-128.

LIU, S.M., SMITH, T.L., BRIEGEL, J., MURRAY, A., MASTERS, D.G., KARLSSON, L.J.E., PALMER, D.G., GREEFF, J.C., BESIER, R.B. et GAO, S.B.  
Comparing productive performance of nematode resistant Merino sheep with non-selected control.  
*Livestock Production Science*. 2005. Vol. 97, n° 2-3, pp. 117-129.

*LOI n° 2010-788 du 12 juillet 2010 portant engagement national pour l'environnement*, 2010. .

MAHIEU, M., FERRÉ, B., MADASSAMY, M. et MANDONNET, N.  
Fifteen years later, anthelmintic resistances have dramatically spread over goat farms in Guadeloupe.  
*Veterinary Parasitology*. 2014. Vol. 205, n° 1-2, pp. 379-384.

MAHIEU, M.  
Effects of stocking rates on gastrointestinal nematode infection levels in a goat/cattle rotational stocking system.  
*Veterinary Parasitology*. 2013. Vol. 198, n° 1-2, pp. 136-144.

MAVROT, F., HERTZBERG, H. et TORGERSON, P.  
Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis.  
*Parasites & Vectors*. 2015. Vol. 8, n° 1, pp. 557-567.

MCKENNA, P. B.  
The estimation of gastrointestinal strongyle worm burdens in young sheep flocks: a new approach to the interpretation of faecal egg counts. I. Development.  
*New Zealand Veterinary Journal*. 1987a. Vol. 35, n° 6, pp. 94-97.

MCKENNA, P. B. et SIMPSON, B. H.  
The estimation of gastrointestinal strongyle worm burdens in young sheep flocks: a new approach to the interpretation of faecal egg counts. II. Evaluation.  
*New Zealand Veterinary Journal*. 1987b. Vol. 35, n° 6, pp. 98-100.

MEDEROS, A., KELTON, D., PEREGRINE, A. S., VANLEEuwEN, J., FERNÁNDEZ, S., LEOUEUF, A., MENZIES, P. et MARTIN, R.  
Evaluation of the utility of subjective clinical parameters for estimating fecal egg counts and packed cell volume in Canadian sheep flocks.  
*Veterinary Parasitology*. 2014. Vol. 205, n° 3-4, pp. 568-574.

MENDOZA-DE GIVES, P. et VAZQUEZ-PRATS, V. M.  
Reduction of *Haemonchus contortus* infective larvae by three nematophagous fungi in sheep faecal cultures.  
*Veterinary Parasitology*. 1994. Vol. 55, n° 3, pp. 197-203.

MÉTÉO France.  
Données climatiques à la station de Le Puy. [en ligne]. [Consulté le 31 juillet 2016].  
Disponible à l'adresse : <http://www.meteofrance.com/climat/france/le-puy/43062001/relevés>

MILLER, J. E., BAHIRATHAN, M., LEMARIE, S. L., HEMBRY, F. G., KEARNEY, M. T. et BARRAS, S. R.  
Epidemiology of gastrointestinal nematode parasitism in Suffolk and Gulf Coast Native sheep with special emphasis on relative susceptibility to *Haemonchus contortus* infection.  
*Veterinary Parasitology*. 1998. Vol. 74, n° 1, pp. 55-74.

MILLER, C.M., WAGHORN, T.S., LEATHWICK, D.M., CANDY, P.M., OLIVER, A-M.B. et WATSON, T.G.  
The production cost of anthelmintic resistance in lambs.  
*Veterinary Parasitology*. 2012. Vol. 186, n° 3-4, pp. 376-381.

MOREDUN RESEARCH INSTITUTE.  
Barbervax | about. [en ligne]. [Consulté le 3 septembre 2016].  
Disponible à l'adresse : <http://barbervax.com.au/lambhogget>

NOZIÈRES-PETIT, Marie-Odile.  
*La commercialisation des produits, source de flexibilité pour les éleveurs?*  
Thèse universitaire, Sciences du vivant. Montpellier SupAgro. 2014. 200p.

PARAUD, C., PORS, I., REHBY, L. et CHARTIER, C.  
Absence of ivermectin resistance in a survey on dairy goat nematodes in France.  
*Parasitology Research*. 2010. Vol. 106, n° 6, pp. 1475-1479.

PARAUD, C., MARCOTTY, T., LESPINE, A., SUTRA, J.F., PORS, I. et DEVOS, I.  
Cross-resistance to moxidectin and ivermectin on a meat sheep farm in France.  
*Veterinary Parasitology*. 2016. Vol. 226, pp. 88-92.

PERNTHANER, A., STANKIEWICZ, M., CABAJ, W. et JONAS, W.  
Immune responsiveness of Romney sheep selected for resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes: field studies.  
*Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1995. Vol. 48, n° 1-2, pp. 97-103.

RAYNAUD, JP., LEROY, JC., VIRAT, M. et NICOLAS, JA.  
Une technique de coproscopie quantitative polyvalente par dilution et sédimentation en eau, flottaison en solution dense (D.S.F.) et numération en lame de Mac Master. Note 1- Intérêt, justification et description [formes parasitaires en matières fécales].  
*Revue de médecine vétérinaire*. 1979. Vol. 130, n° 3, pp. 377-404.

SALLÉ, G., JACQUIET, P., GRUNER, L., CORTET, J., SAUVÉ, C., PRÉVOT, F., GRISEZ, C., BERGEAUD, JP., SCHIBLER, L., TIRCAZES, A., FRANCOIS, D., PERY, C., BOUVIER, F., THOULY, JC., BRUNEL, JC., LEGARRA, A., ELSÉN, JM., BOUJIX, J., RUPP, R. et MORENO, C.  
A genome scan for QTL affecting resistance to *Haemonchus contortus* in sheep.  
*Journal of animal science*. 2012. Vol. 90, n° 13, pp. 4690-4705.

SALLÉ, G., MORENO, C., BOITARD, S., RUESCHE, J., TIRCAZES-SECULA, A., BOUVIER, F., ALETRU, M., WEISBECKER, JL., PRÉVOT, F., BERGEAUD, JP., TRUMEL, C., GRISEZ, C., LIENARD, E. et JACQUIET, P.  
Functional investigation of a QTL affecting resistance to *Haemonchus contortus* in sheep.  
*Veterinary Research*. 2014. Vol. 45, n° 68.

SCHEUERLE, M., MAHLING, M., MUNTWYLER, J. et PFISTER, K.  
The accuracy of the FAMACHA©-method in detecting anaemia and haemonchosis in goat flocks in Switzerland under field conditions.  
*Veterinary Parasitology*. 2010. Vol. 170, n° 1-2, pp. 71-77.

SHAW, R.J., MORRIS, C.A., WHEELER, M., TATE, M. et SUTHERLAND, I.A.  
Salivary IgA: A suitable measure of immunity to gastrointestinal nematodes in sheep.  
*Veterinary Parasitology*. 2012. Vol. 186, n° 1-2, pp. 109-117.

SICARD, Sébastien.

*Faisabilité d'une sélection génétique sur la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez les ovins laitiers dans les Pyrénées Atlantiques.*

Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Toulouse 3. 2010. 119p.

SIDDIQUI, Z. et MAHMOOD, I.

Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review.

*Bioresource Technology*. 1996. Vol. 58, n° 3, pp. 229-239.

SUTHERLAND, Ian et SCOTT, Ian.

*Gastrointestinal Nematodes of Sheep and Cattle: Biology and Control.*

Wiley-Blackwell. 2009. 256p.

TAPIA-ESCARATE D. et POMROY B.

Cross-grazing with cattle or sheep to control worms in deer.

*Vetscript*. 2014. Vol. 27, n° 10, pp. 20-24.

TEREFE, G., LACROUX, C., ANDREOLETTI, O., GRISEZ, C., PREVOT, F., BERGEAUD, J. P., PENICAUD, J., ROUILLON, V., GRUNER, L., BRUNEL, J. C., FRANCOIS, D., BOUIX, J., DORCHIES, P. et JACQUIET, P.

Immune response to *Haemonchus contortus* infection in susceptible (INRA 401) and resistant (Barbados Black Belly) breeds of lambs.

*Parasite Immunology*. 2007. Vol. 29, n° 8, pp. 415-424.

VANIMISETTI, H. B., ANDREW, S. L., ZAJAC, A. M. et NOTTER, D. R.

Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*.

*Journal of animal science*. 2004. Vol. 82, n° 6, pp. 1602-1611.

VAN WYK, J. A., CABARET, J. et MICHAEL, L. M.

Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified.

*Veterinary Parasitology*. 2004. Vol. 119, n° 4, pp. 277-306.

VATTA, A. F., LETTY, B. A., VAN DER LINDE, M. J., VAN WIJK, E. F., HANSEN, J. W. et KRECEK, R. C.

Testing for clinical anaemia caused by *Haemonchus* spp. in goats farmed under resource-poor conditions in South Africa using an eye colour chart developed for sheep.

*Veterinary Parasitology*. 2001. Vol. 99, n° 1, pp. 1-14.

WOOLASTON, R. R., BARGER, I. A. et PIPER, L. R.

Response to helminth infection of sheep selected for resistance to *Haemonchus contortus*.

*International Journal for Parasitology*. 1990. Vol. 20, n° 8, pp. 1015-1018.

# ***ANNEXES***



## **Annexe I : Protocole de dosage du pepsinogène sérique d'après Dorny et Vercruyse (1998)**

Le détail de la préparation des réactifs est présenté en annexe II.

- Jour 1

Préparation des sérums et des blancs :

Distribuer dans des eppendorfs de 1.5mL les sérums et blancs comme indiqué :

	Echantillon	Blanc
Sérum	50µL	/
Eau distillée	/	50µL
Solution de BSA	250µL	250µL

Fermer les microtubes et les agiter au vortex.

Préparation des standards :

Distribuer dans des eppendorfs de 1.5mL 200µL de chaque solution de Tyrosine préparée et fermer les microtubes.

Incubation de tous les eppendorfs à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

- Jour 2

Stopper la réaction après incubation des échantillons et des blancs en distribuant à l'aide de la multipipette 500µL de la solution fille de TCA (1/10 de la solution mère).

Agiter au vortex.

Attendre 10 minutes.

Centrifuger 5 minutes à 14000 rotations par minute à 4°C.

Préparer pendant ce temps la soude 0.25 M.

Dans les microplaques à fond plat de 96 puits :

- Distribuer dans tous les puits 200µL de NaOH 0.25M
- Distribuer en triplicate, selon le schéma de plaque suivant, 20µL d'eau distillée incubée (blanc), de tyrosine à différentes concentrations, de BSA, d'un contrôle positif (sérum dont la concentration est connue) ou des échantillons incubés

Tableau 29 : Schéma de remplissage de la microplaque

Blanc	Blanc	Blanc	Sér1	S1	S1	S9	S9	S9	S17	S17	S17
Tyr 0.1	Tyr 0.1	Tyr 0.1	S2	S2	S2	S10	S10	S10	S18	S18	S18
Tyr 0.2	Tyr 0.2	Tyr 0.2	S3	S3	S3	S11	S11	S11	S19	S19	S19
Tyr 0.3	Tyr 0.3	Tyr 0.3	S4	S4	S4	S12	S12	S12	S20	S20	S20
BSA	BSA	BSA	S5	S5	S5	S13	S13	S13	S21	S21	S21
BSA	BSA	BSA	S6	S6	S6	S14	S14	S14	S22	S22	S22
BSA	BSA	BSA	S7	S7	S7	S15	S15	S15	S23	S23	S23
+	+	+	S8	S8	S8	S16	S16	S16	S24	S24	S24

Agiter la plaque à l'aide d'un agitateur de la plaque.

Ajouter 30µL de Folin dilué au tiers en eau distillée dans tous les puits.

Agiter à nouveau la plaque pendant 2 minutes.

Laisser incuber 30 minutes à température ambiante ( $\pm 5$  minutes).

Lire l'absorbance à 630nm.

Les trois standards donnent une droite étalon utilisée pour déterminer la concentration des sérums en pepsinogène, exprimée en unité de tyrosine par millilitre.

## **Annexe II : Préparation des réactifs du protocole de dosage du pepsinogène**

### 1- Solution Glycine-NaCl-HCl (0.1M)

Solution A : mesurer et mélanger les composants suivants.

Glycine	0.1M	7.507g
NaCl	0.1M	5.844g
Eau distillée	Quantité suffisante pour	1000mL

Solution B : Préparer une solution de HCl à 0.27M à partir d'une solution à 1M.

Mélanger 2 volumes de la solution A et 1 volume de la solution B.

Stériliser sur filtre de 0.2µm.

Aliquoter par 250mL et stocker à 4°C.

### 2- Solution mère de TriChloroAcide acétique (TCA)

Diluer 400g dans 1000mL d'eau distillée. La solution est à stocker à 4°C

### 3- Solution fille de TCA à 4%

Diluer la solution mère au dixième le jour même.

### 4- Solution mère de Tyrosine

Dissoudre 1.812g de L-Tyrosine dans 1 litre d'HCl 0.1M à 20°C.

### 5- Solution Standard de Tyrosine

0.1µmol/L :	Ajouter 10µL de solution mère de tyrosine dans 990µL d'eau distillée
0.2µmol/L :	Ajouter 20µL de solution mère de tyrosine dans 980µL d'eau distillée
0.3µmol/L :	Ajouter 30µL de solution mère de tyrosine dans 970µL d'eau distillée

### 6- Solution de substrat Bovine Serum Albumine (BSA) :

Cette solution est à préparer une heure maximum avant le départ de la réaction.

Dissoudre 2g d'albumine bovine dans 98mL de tampon Glycine-NaCl-HCl.

TITRE :

Evolution sur trois années des infestations parasitaires naturelles chez des brebis Blanc du Massif Central résistantes ou sensibles aux strongles gastro-intestinaux.

RESUME :

La sélection génétique d'animaux résistants aux strongles gastro-intestinaux est une alternative prometteuse à l'utilisation d'anthelminthiques. Cette thèse présente les résultats d'une expérimentation de trois ans qui s'est déroulée dans la station de sélection Fedatest. Des agnelles Blanc du Massif Central ont été sélectionnées sur l'intensité d'excrétion fécale après infestation expérimentale. Un groupe d'animaux résistant (faibles excrétrices) et un groupe de sensibles (fortes excrétrices) ont été constitués. Ils ont été suivis en infestation naturelle, sur une même pâture, pendant 3 ans, puis de nouveau infestés expérimentalement. L'objectif de cette thèse est d'étudier la première génération d'animaux sélectionnés et la cohabitation d'animaux sensibles et résistants. L'excrétion fécale d'œufs est significativement plus faible chez les brebis résistantes, la première année d'infestation naturelle seulement, dans un milieu où la pression parasitaire est modérée. Aucun impact majeur du statut résistant ou sensible sur les paramètres zootechniques (fertilité, prolificité, mortalité et croissance des agneaux...) n'a été rapporté.

Mots-clés : Nématode ; Ovin ; Résistance ; Sélection ; Première génération ; Blanc du Massif Central ; Infestation expérimentale ; Infestation naturelle

---

TITLE :

Evolution for three years of natural parasitic infestation in resistant or sensitive to gastrointestinal nematodes Blanc du Massif Central ewes.

ABSTRACT :

Genetic selection of resistant animals to gastrointestinal nematodes is an encouraging option to replace the use of anthelmintic drugs. This thesis shows the results of a three-year experiment which took place at the selection farm Fedatest. Female Blanc du Massif Central lambs were selected according to their fecal egg count after an experimental infestation. A group of resistant animals and a group of sensitive ones were formed. They were followed on a same pasture, during natural infestation, for three years, and then experimentally infested again. The aim of this thesis was to study the first generation of selected animals and the cohabitation of sensitive and resistant animals. Fecal egg counts were significantly lower for resistant ewes, but only during the first year, in an area with few parasites. No major effect on the zootechnic parameters was shown.

Key words : Nematodes ; Sheep ; Resistance ; Selection ; First generation ; Blanc du Massif Central ; Experimental infestation ; Natural infestation.