



**HAL**  
open science

# Résistance génétique aux nématodes gastro-intestinaux chez les ovins : évaluation des stratégies de sélection et de leur impact à l'échelle de l'élevage

Sophie Aguerre

## ► To cite this version:

Sophie Aguerre. Résistance génétique aux nématodes gastro-intestinaux chez les ovins : évaluation des stratégies de sélection et de leur impact à l'échelle de l'élevage. Sciences du Vivant [q-bio]. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, 2019. Français. NNT : . tel-04418922v1

**HAL Id: tel-04418922**

**<https://hal.inrae.fr/tel-04418922v1>**

Submitted on 5 Jun 2020 (v1), last revised 26 Jan 2024 (v2)

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



# THÈSE

## En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Institut National Polytechnique de Toulouse

---

Présentée et soutenue par  
**Sophie AGUERRE**

Le 3 décembre 2019

**Résistance génétique aux nématodes gastro-intestinaux chez les ovins : Évaluation des stratégies de sélection et de leur impact à l'échelle de l'élevage.**

---

Ecole doctorale : **SEVAB - Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingenieries**

Spécialité : **Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition**

Unité de recherche :  
**GenPhySE- Unité Génétique, Physiologie et Systèmes d'Elevage**

Thèse dirigée par  
**Carole MORENO et Philippe JACQUIET**

Jury

M. Gabriel Ciappesoni, Rapporteur  
M. Christophe Chartier, Rapporteur  
M. Juan José Arranz, Examineur  
Mme Mélanie Gunia, Examinatrice  
M. Guillaume Sallé, Examineur  
Mme Carole MORENO, Directrice de thèse  
M. Philippe Jacquet, Co-directeur de thèse



## **Remerciements**

Au cours de ces trois années de thèse, j'ai bénéficié du soutien de nombreuses personnes que souhaite remercier dans ces pages.

En premier lieu, je tiens à remercier la région Occitanie ainsi que les départements Génétique Animale et Santé Animale de l'INRA qui ont financé ces travaux de recherche.

Je tiens à remercier à Christophe Chartier et Gabriel Ciappesoni qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs de cette thèse, ainsi que Mélanie Gunia, Juan José Arranz et Guillaume Sallé qui ont accepté d'être examinateurs.

J'adresse également mes sincères remerciements aux membres de mon comité de thèse : Jean-Michel Astruc, Andrés Legarra et Claude Soulas pour leurs précieux conseils et le temps qu'ils m'ont consacré au cours de ces trois années de thèse.

Je tiens à remercier chaleureusement mes directeurs de thèse Carole Moreno et Philippe Jacquiet. Merci pour votre soutien pendant ces trois années de thèse et pour tout ce que vous m'avez apporté. J'ai beaucoup appris à vos côtés et je vous en suis très reconnaissante.

Merci également à Frédéric Douhard avec qui j'ai eu le plaisir de travailler au cours de ma thèse.

Je remercie également l'ensemble du personnel de l'unité GenPhySE, et en particulier l'équipe GesPR, ainsi que l'équipe Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse pour leur accueil.

Je tiens à remercier le personnel du Centre Départemental de l'Elevage Ovin, en particulier Claude Soulas et Francis Fidelle pour l'intérêt et l'enthousiasme qu'ils ont toujours manifesté vis-à-vis de mes travaux. Je remercie également les éleveurs qui ont participé aux protocoles menés en ferme. Un grand merci à Héroïse Brodier et Jean-Pascal Bournazel qui ont collecté les données en ferme dans le cadre de leurs travaux de thèse vétérinaire.

Ces trois années de thèse ont également été l'occasion de participer à des protocoles expérimentaux au sein de l'unité expérimentale INRA La Sapinière. Je tiens à remercier Frédéric Bouvier, Didier Marcon ainsi que l'ensemble du personnel pour leur accueil et leur

engagement au cours de ces protocoles.

Un grand merci également à Léa et à Frédéric avec qui j'ai passé de nombreuses heures au labo. Les copros étaient bien moins monotones en votre compagnie !

Dans le cadre de mes travaux de thèse, j'ai également eu la chance de réaliser deux séjours au Roslin Institute.

Je remercie l'Ecole des Docteurs de l'Université Fédérale de Toulouse qui a financé une partie de ces séjours à travers les aides à la mobilité.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Andrea Wilson et son équipe pour le temps qu'ils m'ont consacré et leur accueil chaleureux. Je remercie également Andrea et son groupe de marche pour la découverte du parc régional Pentland Hills.

Je remercie chaleureusement Amanda Novak et JV Noriega qui m'ont accueillie chez eux avec beaucoup de bienveillance, fait découvrir Edimbourg et les Highlands et avec qui j'ai fêté mon premier Thanksgiving et dégusté ma première pumpkin pie !

Un grand merci également à mes collègues de bureau : Mélanie, Géraldine et Vincent qui m'ont accueillie pendant quelques temps et surtout un grand merci à Jean-Louis pour sa gentillesse au quotidien pendant ces trois années de thèse ainsi que pendant les stages qui ont précédés.

Je tiens aussi à remercier tous ceux avec qui j'ai partagé ces années passées à l'INRA.

Merci à tous ceux qui m'ont accueillie lors de mes stages : Maxime, Yoannah, Sophie, Céline, Mathilde et Diane. Un grand merci à Morgane, Charlotte, Marjorie, Héloïse, Mathilde, Eva et Marie-Line rencontrées lors de mes stages. Merci pour votre bonne humeur au quotidien et pour tous les lundis soirs qui sont rapidement devenus les meilleurs moments de la semaine !

Merci aussi à ma grande copine de bus, Noémie, qui a rendu tous ces trajets bien plus joyeux.

Merci à tous les doctorants qui ont partagé ces années avec moi : Marc, Hung, Mathieu, Claire, Tiphaine, Estelle, Claire, Audrey, Vanille, Fernando, David et Amir. Merci également aux stagiaires avec une mention particulière pour le cru 2019 : merci à Océane pour toutes tes histoires rocambolesques qui ont tant animé nos repas et merci à Amaury et Maxime pour le cours de zumba, votre vidéo et le barbecue pour ne citer que les moments les plus mémorables.

Merci à Tiphaine, Claire, Xavier et Marc pour notre road trip en Nouvelle-Zélande et tous les incroyables souvenirs que je garde de ce voyage.

Je tiens à adresser un merci tout particulier aux Stitchounettes : Harmony, Tiphaine, Estelle, Claire, Vanille sans oublier notre happiness manager Audrey. Merci pour tous les fous rires et les bons moments partagés à l'INRA et en dehors.

Je tiens à remercier également tous ceux ont rendu la vie toulousaine si agréable.

Merci à Thibault, Baptiste, Matthias et Aurélie ainsi qu'à l'ensemble des doctorants de l'ONERA pour tous les bons moments partagés.

Merci à Lucile et François (dit Boubou), Emilie et Mickaël, Valentin ainsi que Félix.

Un grand merci aux amies Saiennes Noémie, Morgane, Iris, Marion, Clémentine et Roxane pour les nombreux fous rires et les week-ends passés ensemble (vivement les prochains !).

Un immense merci à mes amis de toujours Emilie, Yoann et Paulus. Il paraît qu'une amitié qui dure plus de 7 ans peut durer toute la vie. On est plutôt bien partis !

Je remercie également ma famille pour tous les bons moments partagés et leur soutien. Je remercie tout particulièrement mes cousins Jean-Marc et Maxime qui ont partagé avec moi leur passion pour leur métier de berger et leur amour de la montagne.

Un immense merci à mes parents pour leurs encouragements et leur soutien sans faille. Merci de m'avoir laissée « n'en faire qu'à ma tête », après tout comme le disait ma grand-mère « chacun doit suivre sa route ».

Et enfin, merci à toi pour toutes ces années passées ensemble. Merci pour ces connaissances footballistiques que je n'aurais jamais imaginé acquérir un jour. Merci d'avoir supporté mes fixations cinématographiques et ma passion des livres quelque peu envahissante... Merci pour notre voyage en Islande (et d'avoir su composer avec mes autres goguettes internationales).

Bref, merci pour tout.

Après lo malh, un aute malh,  
un aute malh, un aute malh,  
Après la lutz, ua auta lutz,  
ua auta lutz, ua auta lutz.

*Nadau*



# **Table des matières**

Remerciements .....	2
Table des matières .....	6
Liste des tableaux .....	10
Liste des figures .....	10
Liste des abréviations .....	11
Introduction générale.....	13
Contexte scientifique.....	15
1. Les strongles gastro-intestinaux chez les petits ruminants .....	15
1.1. Diversité des strongles gastro-intestinaux .....	15
1.2. Cycle biologique et infestation de l'hôte.....	16
1.3. Action pathogène des strongles gastro-intestinaux .....	18
1.4. Diagnostic.....	19
1.5. Méthodes actuelles de contrôle et leurs limites .....	22
1.5.1. Les anthelminthiques : mode d'action et contraintes d'utilisation chez les ovins.	22
1.5.2. Impacts de l'usage massif des anthelminthiques .....	24
1.5.2.1 Impacts sur l'environnement.....	24
1.5.2.2. Résistance des parasites à ces molécules .....	24
1.5.2.2.1 Etats des lieux .....	25
1.5.2.2.2 Mécanismes de résistance .....	28
1.5.2.2.3 Facteurs favorisant le développement de la résistance aux anthelminthiques .....	29
2. Méthodes complémentaires pour le contrôle des strongles gastro-intestinaux .....	32
2.1. Eliminer les strongles gastro-intestinaux au sein de l'hôte .....	32



2.1.1.	Utilisation raisonnée des traitements anthelminthiques .....	32
2.1.1.1.	Population refuge.....	32
2.1.1.2.	Nouvelles pratiques pour le contrôle des infestations parasitaires .....	33
2.1.2.	Action des plantes à tanins sur les parasites .....	34
2.2.	Limitier l'exposition des animaux aux strongles gastro-intestinaux .....	35
2.2.1.	Comportement des animaux au pâturage.....	35
2.2.2.	La conduite au pâturage.....	36
2.2.3.	Bactéries et champignons nématophages .....	39
2.3.	Renforcer la réponse immunitaire de l'hôte .....	41
2.3.1.	Description de la réponse immunitaire de l'hôte.....	41
2.3.1.1.	Mécanismes mis en jeu.....	41
2.3.1.2.	Etapes du cycle biologique des strongles gastro-intestinaux affectées par la réponse immunitaire .....	43
2.3.1.3.	Effet de l'âge et du statut physiologique .....	43
2.3.2.	Vaccination.....	44
2.3.3.	Supplémentation en protéines.....	45
2.3.4.	Sélection génétique.....	47
2.3.4.1.	Variabilité génétique de la résistance de l'hôte .....	47
2.3.4.2.	Déterminisme génétique de la résistance au parasitisme .....	48
2.3.4.3.	Corrélations génétiques entre la résistance aux strongles gastro-intestinaux et les caractères de production et de reproduction .....	49
2.4.	Vers une gestion intégrée des strongles gastro-intestinaux en ferme .....	51
2.4.1.	Choix des stratégies les plus adaptées .....	51
2.4.2.	Faisabilité et acceptabilité par les éleveurs.....	51
3.	Sélection génétique d'un animal résistant aux nématodes gastro-intestinaux.....	54
3.1.	L'amélioration génétique.....	54
3.2.	Principe de l'estimation des paramètres génétiques et de l'évaluation .....	55
3.2.1.	Présentation du modèle polygénique.....	55
3.2.2.	Principe des méthodes d'estimation des paramètres génétiques .....	56
3.2.3.	Principe des méthodes de détection des QTL.....	57

3.2.4. Principe de l'évaluation génétique .....	59
3.2.5. Principe de l'évaluation génomique .....	60
3.2.6. Apports de la génomique.....	62
Objectifs de la thèse et démarche scientifique .....	64
Etude 1 : Evaluation de la faisabilité de la sélection pour la résistance au parasitisme sur la base de la réponse des mâles candidats à la sélection au protocole d'infestation expérimentale .....	67
Etude 2 : Estimation des corrélations génétiques entre la résistance au parasitisme mesurée par le nombre d'œufs excrétés dans les fèces et caractères de production laitière.....	77
Etude 3 : Détection des régions du génome impliquées dans le déterminisme génétique de la résistance au parasitisme et des caractères de production laitière.....	96
Etude 4 : Etude de potentiels compromis entre la résistance aux strongles gastro-intestinaux et les fonctions biologiques chez des agnelles en croissance .....	116
Discussion générale.....	143
1. Vers une meilleure compréhension du lien entre résistance aux strongles gastro-intestinaux et les autres fonctions biologiques.....	143
1.1. Confirmation de l'existence de compromis entre fonction immunitaire et les autres fonctions biologiques .....	143
1.2. Etudes en ferme .....	145
2. Quelles sont les prochaines étapes pour l'intégration de la résistance aux strongles gastro-intestinaux dans les schémas de sélection ? .....	146
2.1. Comment inclure la résistance aux strongles gastro-intestinaux dans le schéma de sélection de la race Manech Tête Rousse ? .....	146
2.1.1. Objectif de sélection .....	146
2.1.2. Comment évaluer les béliers candidats à la sélection ? .....	147
2.1.2.1. Protocole de phénotypage.....	147
2.1.2.2. Choix du critère de sélection.....	148
2.1.3. Comment diffuser le progrès génétique ? .....	149
2.2. Opportunités dans les autres races laitières et les races allaitantes.....	150

3. Quel rôle pour la sélection génétique dans la gestion intégrée du parasitisme gastro-intestinal ? .....	151
3.1. Intérêts de la sélection pour la résistance dans la gestion intégrée du parasitisme gastro-intestinal .....	151
3.2. Limites potentielles de la sélection génétique pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux .....	152
3.2.1. Un impact sur la résistance aux autres agents pathogènes ? .....	152
3.2.2. Un risque de contournement de la résistance génétique par les strongles ?.....	152
3.3. Comment combiner les différentes stratégies ? .....	153
Conclusion.....	155
Références bibliographiques .....	157

## Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Principales espèces de strongles gastro-intestinaux chez les ovins. ....</i>	15
<i>Tableau 2 : Principaux anthelminthiques disponibles chez les ovins et leurs restrictions d'usage (d'après Jacquet et al., 2014).....</i>	23
<i>Tableau 3 : Etat des lieux de la résistance aux anthelminthiques dans le monde (d'après Jabbar et al., 2006).....</i>	26
<i>Tableau 4 : Dates de commercialisation des principales molécules anthelminthiques et dates des premiers signalements de résistance (Kaplan, 2004 ; Scott et al., 2013) .....</i>	27
<i>Tableau 5 : Etat des lieux des régions QTL identifiées pour la résistance au parasitisme (d'après Zvinorova et al., 2016).....</i>	49
<i>Tableau 6 : Corrélations génétiques entre caractères de résistance aux strongles gastro- intestinaux et caractères de production et de reproduction. ....</i>	50

## Liste des figures

<i>Figure 1 : Cycle biologique des strongles gastro-intestinaux chez les ovins. ....</i>	17
<i>Figure 2 : Schéma représentant la réalisation d'une coproscopie (adapté de Morgan et al., 2005).....</i>	21
<i>Figure 3 : La réponse immunitaire aux strongles gastro-intestinaux chez les ovins.....</i>	42
<i>Figure 4 : Principe de l'évaluation génomique .....</i>	60
<i>Figure 5 : Description du protocole d'infestation expérimentale utilisé pour phénotyper les animaux. ....</i>	65

## ***Liste des abréviations***

FECRT : test de réduction d'excrétion d'œufs (« fecal egg count reduction test »)

GMQ : gain moyen quotidien

IA : insémination artificielle

ISOL : index de synthèse ovin lait

NEC : note d'état corporel

OPG : nombre d'œufs excrétés par gramme de fèces

OS : organisme de sélection

QTL : quantitative trait loci

SGI : strongles gastro-intestinaux

TST : traitement sélectif (« targeted selective treatment »)

TT : traitement ciblé (« targeted treatment »)



## ***Introduction générale***

---

Le cheptel ovin français compte 7,1 millions d'individus dont 3,8 millions de brebis allaitantes et 1,6 million de brebis laitières (Idele, 2018). Les cheptels laitiers sont principalement élevés dans trois bassins de production (le rayon Roquefort, les Pyrénées-Atlantiques et la Corse) alors que le cheptel allaitant est plus dispersé sur l'ensemble du territoire. L'élevage ovin est surtout pratiqué dans des zones difficilement valorisables et repose souvent sur le pâturage. Les animaux sont donc exposés aux strongles gastro-intestinaux (SGI) qui représentent l'une des principales contraintes pour l'élevage ovin.

Il est difficile de chiffrer précisément le coût économique du parasitisme gastro-intestinal. Les pertes de production observées peuvent résulter de la combinaison de plusieurs facteurs : parasitisme gastro-intestinal, stress nutritionnel, mode de gestion du troupeau ou d'autres maladies par exemple. Cependant, les estimations s'élèvent toujours à plusieurs millions d'euros par an pour la filière ovine. Par exemple, le coût annuel du parasitisme gastro-intestinal a été estimé à 84 millions de livres au Royaume-Uni (Nieuwhof and Bishop, 2005) et à 372 millions d'euros pour la filière ovine allaitante à l'échelle européenne (Mavrot, 2016). Ces chiffres s'expliquent d'une part par le coût des traitements anthelminthiques et la charge de travail supplémentaire pour l'éleveur et d'autre part par les importantes pertes de production. En Australie, plus de 60% du coût annuel du parasitisme estimé à 222 millions de dollars est dû aux pertes de production (McLeod, 1995).

La gestion des SGI repose classiquement sur l'utilisation de traitements anthelminthiques. Cependant, l'utilisation massive de ces molécules a conduit au développement et à la propagation de résistance parasitaire à la plupart des familles de molécules anthelminthiques disponibles dans différentes régions du monde (Jabbar et al., 2006). Elle soulève également des inquiétudes du fait de l'impact environnemental de certaines familles d'anthelminthiques qui affecteraient la faune du sol. Cette situation couplée aux restrictions réglementaires pour l'usage des traitements anthelminthiques mène les éleveurs vers des impasses thérapeutiques, en particulier dans la filière laitière. De plus, les attentes sociétales de ces dernières années amènent de plus en plus les agriculteurs à se tourner vers des modes d'élevage respectant les principes de l'agroécologie, plus respectueux de l'environnement et du bien-être animal et encourageant une réduction des intrants dont les traitements anthelminthiques font partie.

D'importants efforts de recherche portent sur les stratégies qui pourraient être mises en place pour une gestion durable du parasitisme gastro-intestinal. Même s'il n'est pas envisageable de se priver totalement des traitements anthelminthiques, une utilisation plus raisonnée permettrait de limiter le

développement des populations de strongles gastro-intestinaux résistants. De nouvelles stratégies pourraient être employées par l'éleveur qui ne traiterait alors que les animaux les plus sensibles ou choisirait les meilleurs moments pour traiter ses animaux. Cependant cela nécessite un suivi régulier et individuel des animaux, ce qui représente une lourde charge de travail. De plus, certains modes de gestion des pâtures permettraient de limiter le contact entre les parasites et les animaux (Stear et al., 2006). Un autre axe de recherche porte sur l'amélioration de la résistance de l'hôte. Jusqu'à présent, les tentatives de développement d'un vaccin n'ont pas permis d'assurer une protection durable à l'hôte (Matthews et al., 2016). Cependant, les études portant sur l'alimentation de l'hôte, notamment une supplémentation en protéines, ont démontré l'efficacité de cette stratégie (Steel, 2003). Enfin, la sélection génétique pour une meilleure résistance aux nématodes gastro-intestinaux fait partie des stratégies les plus prometteuses. L'existence d'une variabilité inter races et d'une variabilité intra race en partie sous contrôle génétique laisse penser qu'il est possible de sélectionner les animaux pour leur résistance aux SGI (Bishop and Morris, 2007).

Des programmes de sélection basés sur des mesures de résistance en infestation naturelle ont été mis en place avec succès dans plusieurs grands pays d'élevage ovin (Bishop and Morris, 2007). En France, les niveaux de contamination des pâtures pouvant varier d'une année à l'autre selon les conditions climatiques, une sélection en conditions naturelles paraît difficile. De plus, l'organisation pyramidale des schémas de sélection permet de diffuser le progrès génétique réalisé au sein du noyau de sélection vers l'ensemble des élevages. Ceci a conduit les équipes de recherche à développer un protocole d'infestation expérimentale permettant d'évaluer la résistance au nématode *Haemonchus contortus* des béliers candidats à la sélection. Il a été démontré qu'il existe (i) une corrélation proche de 1 entre la résistance en conditions expérimentales et en conditions naturelles et (ii) une très forte corrélation entre résistance à *H. contortus* et *Trichostrongylus colubriformis* (Gruner et al., 2004a ; Gruner et al., 2004b). L'hypothèse a donc été faite que la sélection de béliers en conditions expérimentales permettrait d'augmenter la résistance aux SGI des troupeaux en conditions d'infestation naturelle.

Les travaux de cette thèse ont d'une part pour objectif de valider le protocole d'infestation expérimentale mis au point à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et de mieux comprendre le déterminisme génétique de la résistance aux SGI chez les ovins. D'autre part, l'objectif était d'évaluer les impacts sur le long terme de cette sélection notamment sur les autres fonctions biologiques (croissance, gestation et lactation en particulier).



## Contexte scientifique

### 1. Les strongles gastro-intestinaux chez les petits ruminants

#### 1.1. Diversité des strongles gastro-intestinaux

Les strongles gastro-intestinaux sont des Nématodes parasites qui appartiennent à l'ordre des Strongylida. Cet ordre se divise en deux super familles (Jacquet, 1997) :

- Les Trichostrongyloidea : ce sont les strongles les plus pathogènes. Ils se reconnaissent à leur capsule buccale absente ou rudimentaire et une bourse copulatrice très développée.
- Les Strongyloidea : leur capsule buccale est bien développée.

Ils sont dits ubiquistes du fait de leur distribution géographique mondiale.

Au pâturage, les ovins sont souvent parasités par plusieurs espèces de strongles. Les principales espèces rencontrées chez les ovins ainsi que leur localisation dans le tractus digestif sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Principales espèces de strongles gastro-intestinaux chez les ovins.

Super famille	Famille	Genre	Espèces présentes chez les ovins	Localisation dans le tractus digestif
Trichostrongyloidea	Trichostrongylidae	<i>Haemonchus</i>	<i>Haemonchus contortus</i>	Caillette
		<i>Trichostrongylus</i>	<i>Trichostrongylus axei</i>	Caillette
			<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	Intestin grêle
		<i>Cooperia</i>	<i>Cooperia curticei</i>	Intestin grêle
		<i>Teladorsagia</i>	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	Caillette
	Nematodiridae	<i>Nematodirus</i>	<i>Nematodirus battus</i>	Intestin grêle
Strongyloidea	Strongylidae	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Oesophagostomum venulosum</i>	Gros intestin
		<i>Chabertia</i>	<i>Chabertia ovina</i>	Colon

Les proportions des différentes espèces de strongles gastro-intestinaux présentes sur une pâture peuvent varier en fonction des conditions climatiques. La diversité spécifique peut ainsi différer d'une région à l'autre et varier au cours des saisons (Jacquiet et al., 2004).

Les œufs de strongles présentant tous une morphologie similaire, l'identification des différentes espèces à ce stade est difficile. Cependant, elle peut être réalisée à partir de critères morphologiques sur les larves infestantes L3 (longueur totale, longueur de la queue, nombre de cellules intestinales...) ou sur les individus adultes (longueur totale, forme de la capsule buccale, de la bourse caudale, des spicules...) (van Wyk and Mayhew, 2013).

Des méthodes moléculaires ont été développées en alternative aux méthodes d'identification morphologique qui demandent une très bonne expertise et beaucoup de temps. Ainsi, Milhes et al. (2017) ont comparé les résultats de comptage et d'identification des larves infestantes réalisés au microscope et par PCR en temps réel. Ils ont obtenu une corrélation de 0,88 entre le comptage au microscope et la quantification par PCR en temps réel. De plus, l'identification des espèces parasitaires réalisée par PCR en temps réel était en accord avec celle réalisée au microscope (kappa de Cohen = 0,91). Cette méthode se révèle donc très prometteuse comme alternative au comptage et à l'identification au microscope. Elle offre deux avantages principaux : sa rapidité et la possibilité de distinguer les larves infestantes des genres *Teladorsagia* et *Trichostrongylus*, toujours délicate au microscope.

## **1.2. Cycle biologique et infestation de l'hôte**

Les strongles gastro-intestinaux ont un cycle biologique monoxène (un seul hôte). Il se compose d'une phase libre dans le milieu extérieur et d'une phase parasitaire chez l'hôte (Figure 1).

La phase libre commence par l'excrétion dans la pâture des œufs pondus par les vers femelles via les matières fécales de l'hôte. Ces œufs se développent dans les fèces en larves L1 puis en larves L2. Ces stades sont libres et se nourrissent de matières organiques présentes dans les fèces. Puis les larves L2 évoluent en larves L3 infestantes. Cette dernière mue est incomplète et les larves L3 restent protégées par l'exuvie des L2 dont elles ne s'extrait qu'une fois dans le tractus digestif de l'hôte. Cette protection les rend très résistantes dans le milieu extérieur et leur permet de survivre plusieurs semaines voire plusieurs mois sur la pâture.

La rapidité et le taux de succès du développement des œufs en larves L3 dépend des conditions environnementales (température et humidité). La migration des larves L3 hors des matières fécales nécessite un certain taux d'humidité (Wang et al., 2014). Ainsi, les pics de présence de larves L3 infestantes sur la pâture ont lieu au printemps et à l'automne.

La phase parasitaire débute au pâturage par l'ingestion des larves L3 infestantes par l'hôte. Les larves perdent leur exuvie et migrent dans la muqueuse digestive. Elles muent alors en larves L4 qui évoluent ensuite en stades 5 dits juvéniles puis en vers adultes. Après accouplement, les femelles adultes pondent des œufs qui sont excrétés dans les matières fécales de l'hôte et contaminent la pâture. La durée entre l'ingestion des larves L3 infestantes et le début d'excrétion d'œufs dans les matières fécales, appelée période prépatente, est d'environ trois semaines.

En hiver, il est fréquent que les larves interrompent leur cycle de développement et s'enkystent dans la muqueuse digestive, notamment pour les espèces *T. circumcincta* et *H. contortus*. Ce phénomène est appelé « hypobiose ». Les larves ne reprennent alors leur développement qu'au printemps.

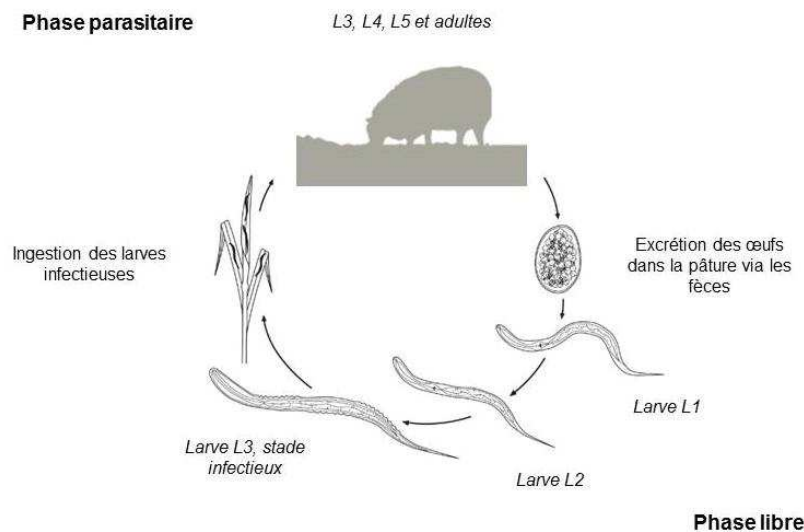


Figure 1 : Cycle biologique des strongles gastro-intestinaux chez les ovins.

Ce cycle biologique est commun aux différentes espèces de strongles gastro-intestinaux. Cependant, la durée des stades de développement et le nombre d'œufs produits par les parasites femelles adultes est propre à chaque espèce.

Dans le cadre de nos travaux expérimentaux, nous avons utilisé *H. contortus* comme parasite modèle du fait de sa pathogénicité et de sa prolificité. Nous présentons ici les particularités de son cycle biologique :

- la température optimale de développement des œufs est de 25-36°C (O'Connor et al., 2006).
- *H. contortus* est un parasite hématophage dès le stade L4.
- les adultes mesurent entre 1 et 3 cm de longueur et sont de couleur rouge du fait de leur mode d'alimentation ; cette caractéristique les rend facilement observables à l'œil nu sur la muqueuse abomasale.
- les femelles ont une fécondité très élevée par rapport aux autres espèces de strongles avec 5000 à 7000 œufs par jour et par femelle au pic de ponte (Coyne et al., 1991) ; cette particularité en fait un bon modèle pour l'étude de la résistance des hôtes au parasitisme puisque l'on peut rapidement distinguer les animaux résistants des animaux sensibles sur la base du nombre d'œufs excrétés dans les fèces.

### **1.3. Action pathogène des strongles gastro-intestinaux**

L'action pathogène des strongles gastro-intestinaux est principalement due à :

- une anémie du fait de pertes sanguines
  - o directes causées par les espèces hématophages
  - o indirectes dues aux lésions de la muqueuse digestive.
- une réduction de l'ingestion proportionnelle à la dose de larves infestantes ingérées (Coop et al., 1982).
- une altération de la dégradation et de l'absorption des nutriments due à une altération de la motricité digestive, une modification du pH dans la caillette et des sécrétions gastro-intestinales ainsi qu'aux lésions de l'épithélium intestinal occasionnées par les vers.

Plus particulièrement, les animaux infestés par *H. contortus* souffrent d'anémie et d'une dégradation générale de leur état de santé associée à une perte de poids. L'haemonchose existe sous trois formes :

- haemonchose chronique : forme la plus répandue, elle conduit à une dégradation générale de l'état de santé de l'animal. Elle affecte également les capacités de production de l'animal puisqu'elle se traduit par une perte de poids, une diminution de la production laitière, une laine de mauvaise qualité. Sous cette forme l'haemonchose est à l'origine de pertes économiques importantes.
- haemonchose aigüe : elle se caractérise par une perte de poids et une anémie importante se traduisant par une pâleur des muqueuses. Dans certains cas, les animaux atteints d'haemonchose aigüe peuvent présenter un œdème sous la mâchoire, dit œdème de la bouteille (œdème de l'auge ou « bottle jaw » en anglais).
- haemonchose suraigüe : peu fréquente, elle est causée par une infestation très importante qui conduit à la mort subite de l'animal.

#### **1.4. Diagnostic**

Plusieurs méthodes ont été développées afin d'évaluer le niveau d'infestation d'un animal en ferme ou au laboratoire.

En ferme, l'observation de l'état général et le suivi des performances des animaux peuvent permettre à l'éleveur de repérer des animaux infestés. Cependant certains animaux, dits résilients car capables de maintenir leur niveau de production malgré l'infestation, ne pourront pas être identifiés comme parasités.

L'éleveur peut également s'appuyer sur des indicateurs basés sur des grilles d'évaluation.

La **note d'état corporel** (NEC) est un indicateur zootechnique permettant d'évaluer la condition corporelle de l'animal sur une échelle de 0 à 5. Un animal parasité aura tendance à être en moins bonne condition et donc à avoir une NEC plus faible.

L'**indice de diarrhée** (« dag score » dans la littérature) est un indicateur clinique évaluant la souillure de l'arrière train de l'animal. Une note de 0 (pas de souillure) à 5 est attribuée à l'animal suite à un

examen visuel facile à réaliser. Cependant, même si l'infestation par des SGI peut induire une diarrhée chez l'animal, cet indicateur n'est pas spécifique car une diarrhée peut avoir plusieurs autres causes.

L'**index FAMACHA** est un indicateur clinique évaluant le niveau d'anémie de l'animal en comparant la couleur de la muqueuse oculaire à la table FAMACHA. Une note allant de 1 à 5 est attribuée. Une note de 5 correspond à un animal dont la muqueuse est blanche et qui est donc fortement anémié. Néanmoins, cet indicateur n'est utile que si les animaux sont infestés par des espèces hématophages telles que *H. contortus*.

L'utilisation de ces indicateurs en ferme est relativement simple. Elle nécessite tout de même une formation et représente une charge de travail supplémentaire pour l'éleveur.

En complément des observations réalisées sur les animaux, des méthodes de laboratoire permettent d'évaluer plus précisément la charge parasitaire des individus à partir d'échantillons de salive, de sang ou de fèces prélevés sur l'animal.

L'excrétion d'œufs de strongles dans les fèces exprimée en **nombre d'œufs par gramme de fèces** (OPG) est la mesure la plus couramment utilisée pour détecter la présence des SGI et mesurer la résistance d'un animal à ces parasites. Cette mesure est obtenue à partir d'un échantillon de fèces individuel prélevé directement dans le rectum de l'animal. Le comptage des œufs en cellules de MacMaster est la technique la plus couramment employée (Taylor, 2010). Trois grammes de fèces sont dilués dans 42 mL d'eau salée. Le mélange est ensuite homogénéisé puis filtré trois fois. Enfin quelques millilitres de solution sont prélevés à l'aide d'une pipette afin de remplir les deux chambres de la lame de MacMaster. La lame est ensuite placée sous microscope afin de compter les œufs (Figure 2). Le nombre d'œufs par gramme est obtenu en multipliant par 50 le nombre d'œufs comptés dans les deux réseaux.

Des corrélations phénotypiques comprises entre 0,49 et 0,83 ont été estimées entre le nombre d'œufs excrétés dans les fèces et la charge parasitaire de l'hôte (Whitlock et al., 1972 ; Roberts and Swan, 1981 ; Cabaret et al., 1998). Cette corrélation peut être encore plus élevée lorsque la part d'*H. contortus* augmente dans la population parasitaire (Cabaret et al., 1998). Le nombre d'œufs dans les fèces reflète à la fois le nombre de parasites installés dans le tractus digestif de l'hôte et la prolificité des parasites adultes.

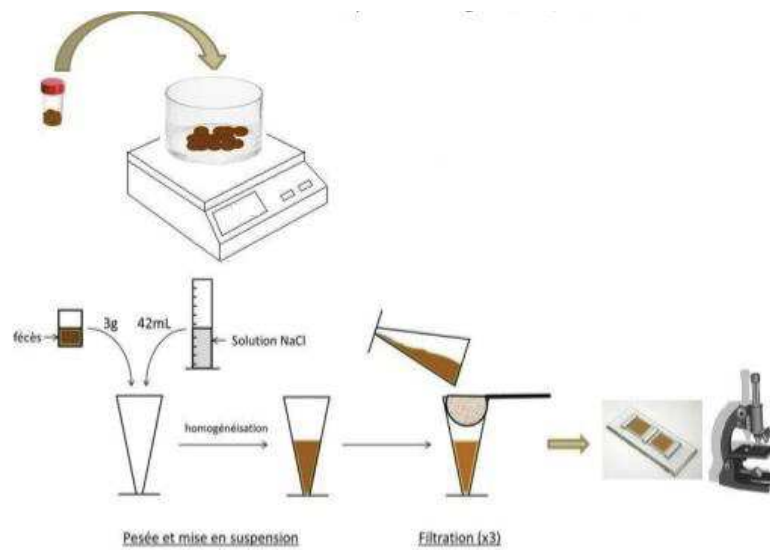


Figure 2 : Schéma représentant la réalisation d'une coproscopie (adapté de Morgan et al., 2005).

L'**hématocrite** est évalué à partir d'un échantillon de sang prélevé sur anticoagulant. Il s'agit du volume relatif occupé par les globules rouges dans le sang. Cet indicateur peut être utilisé lors d'infestations par des parasites hématophages tels que *H. contortus* et permet de quantifier l'anémie. Il s'agit d'un indicateur de résilience puisqu'il permet de mesurer la capacité de l'animal à maintenir ses constantes biologiques en dépit de la présence de parasites hématophages.

La présence d'**anticorps** dans le sang ou la salive de l'hôte révèle la présence de parasites dans le tractus digestif de l'animal. Des études ont montré qu'une concentration élevée en IgA dans la salive ou dans le plasma était associée à des OPG moins élevés (Stear et al., 1999). Une étude néo-zélandaise a ainsi pu montrer que les animaux dont la concentration salivaire en IgA anti-CarLA (antigène spécifique des larves des trichostrongles) était élevée avaient des OPG 20 à 30% inférieurs à ceux d'animaux dont la concentration salivaire en IgA était faible (Shaw et al., 2012).

Cependant, ces anticorps sont impliqués dans la réponse immunitaire acquise et ne peuvent pas être utilisés pour évaluer la résistance d'animaux en primo-infestation. Cette mesure est donc peu pertinente pour évaluer la réponse des agneaux lors de leurs premières infestations parasitaires.

Cet indicateur est principalement utilisé pour des travaux de recherche.

## **1.5. Méthodes actuelles de contrôle et leurs limites**

### **1.5.1. Les anthelminthiques : mode d'action et contraintes d'utilisation chez les ovins**

Il existe six familles de molécules anthelminthiques efficaces contre les strongles gastro-intestinales chez les petits ruminants : benzimidazoles, imidazothiazoles, salicylanilides, lactones macrocycliques, dérivés d'amino-acétonitrile et spiroindoles (Tableau 2). En France, les cinq premières familles peuvent être utilisées.

Les benzimidazoles agissent en se fixant spécifiquement à la tubuline et en empêchant sa polymérisation et la formation des microtubules cytoplasmiques. Cela entraîne une désorganisation des cellules et empêche les cellules de l'œuf de se diviser. Ainsi, l'action des benzimidazoles induit des lésions cellulaires et un arrêt de la ponte. Les quelques œufs pondus ne se développent pas (action ovicide des benzimidazoles).

Les imidazothiazoles agissent sur les synapses neuromusculaires et bloquent la transmission neuromusculaire chez le parasite. Ils se fixent sur les récepteurs nicotiniques mimant ainsi l'action de l'acétylcholine et provoquent l'ouverture des canaux sodiques. Cela conduit à une contraction musculaire permanente entraînant la paralysie puis la mort du parasite.

Les salicylanilides ne sont efficaces que contre les parasites hématophages car ils se lient aux protéines plasmatiques, en particulier l'albumine. Ils inhibent la phosphorylation oxydative chez le parasite et donc la production de réserves énergétiques sous forme d'ATP. Leur action entraîne une paralysie chez le parasite conduisant à sa mort.

Les lactones macrocycliques agissent sur les canaux chlorures glutamate-dépendants présents sur les membranes des cellules nerveuses et musculaires des parasites. Elles induisent une conformation ouverte de ces canaux et l'entrée massive d'ions chlorure dans la cellule qui ne peut plus se contracter. On observe alors une paralysie flasque chez les parasites.

La famille des dérivés d'amino-acétonitrile ne comporte qu'un représentant : le monépantel. Celui-ci est actif contre les stades L4 et les stades adultes des strongles gastro-intestinales. Il provoque une paralysie chez le parasite par hyper-contraction des muscles en se fixant à des récepteurs nicotiniques différents de ceux utilisés par les imidazothiazoles.

Les spiroindoles sont des antagonistes des récepteurs nicotiniques des parasites. Ils inhibent la fixation de l'acétylcholine et conduisent à la paralysie flasque du parasite en empêchant la contraction musculaire.



Tableau 2 : Principaux anthelminthiques disponibles chez les ovins et leurs restrictions d'usage (d'après Jacquet et al., 2014).

Famille	Molécule	Posologie et voie d'administration	Restriction d'utilisation
<b>Benzimidazoles</b>	Fenbendazole	5 mg/kg VO	Délai d'attente lait : 8,5 j Pas d'embryotoxicité à cette posologie
	Oxfendazole	5 mg/kg VO	Délai d'attente lait : 8 j Pas d'embryotoxicité à cette posologie
	Mébendazole (associé au closantel)	15 mg/kg (10mg/kg) VO	Association interdite en lactation et au tarissement et un an avant le 1er agnelage
	Albendazole	3,8 mg/kg VO	Interdit en lactation Pas dans le 1er tiers de la gestation
	Nétobimin	7,5 mg/kg VO	Délai d'attente lait : 5 j Pas dans le 1er tiers de la gestation
<b>Imidazothiazoles</b>	Lévamisole	7,5 mg/kg IM	Interdit en lactation, au tarissement et deux mois avant le 1er agnelage
<b>Salicylanilides</b>	Closantel	10 mg/kg VO, SC 10 mg/kg avec Oxfendazole 5 mg/kg VO 10 mg/kg avec ivermectine 0,2 mg/kg SC	Interdit en lactation, au tarissement et un an avant le 1er agnelage
	Nitroxynil	SC	
<b>Lactones macrocycliques</b>	Ivermectine	0,2 mg/kg VO	Interdit en lactation, au tarissement et 28 j avant le 1er agnelage
		0,2 mg/kg SC	Interdit en lactation, au tarissement et 21 j avant le 1er agnelage
	Doramectine	0,2 mg/kg IM	Interdit en lactation, au tarissement et 70 j avant le 1er agnelage
	Eprinomectine	0,5 mg/kg PO	Délai d'attente nul pour le lait
	Moxidectine	0,2 mg/kg VO	Délai d'attente lait : 5 j
0,2 mg/kg SC SC à la base de l'oreille Cydectine LA 2% 1 mg/kg		Interdit chez les femelles laitières en lactation, les agnelles gestantes et les brebis taries 60 j avant agnelage Interdits chez les brebis laitières à tous les stades de leur vie	
<b>Dérivés d'acétonitrile</b>	Monépantel	2,5 mg/kg VO	Interdits chez les brebis laitières à tous les stades de leur vie
<b>Spiroindoles</b>	Derquantel (+ abamectine)	2 mg / kg derquantel + 0,2 mg / kg abamectine	Interdits chez les brebis laitières à tous les stades de leur vie Pas encore sur le marché en France

## **1.5.2. Impacts de l'usage massif des anthelminthiques**

### **1.5.2.1 Impacts sur l'environnement**

De nombreuses espèces de la faune du sol jouent un rôle important dans la dispersion et la dégradation des matières fécales dans les pâtures. Elles participent ainsi au renouvellement de la matière organique et à la productivité des pâturages (Lumaret and Errouissi, 2002). Un usage important de certains traitements anthelminthiques peut nuire à ces espèces non-cibles qui se nourrissent ou se reproduisent dans les matières fécales. En effet, une grande partie des traitements anthelminthiques est éliminée dans les fèces des animaux traités sous forme active ou métabolisée (Floate et al., 2005). Plusieurs facteurs peuvent moduler l'impact environnemental de ces molécules (McKellar, 1997) :

- la sensibilité des espèces non-cibles aux molécules anthelminthiques
- la quantité d'agent actif qui est excrétée dans l'environnement
- le temps d'excrétion des molécules
- la stabilité du produit dans le milieu extérieur
- des facteurs environnementaux tels que la lumière, les précipitations et la température.

De plus, les différentes familles d'anthelminthiques ne présentent pas toutes le même risque écotoxique. Les résidus issus des benzimidazoles et du lévamisole présentent une toxicité faible pour la faune coprophage contrairement à ceux des lactones macrocycliques qui s'avèrent très toxiques (Lumaret & Errouissi, 2002). Or les benzimidazoles et le lévamisole sont de moins en moins utilisés en production ovine (du fait des restrictions d'usage, de leur spectre d'action étroit et du développement de résistances) au profit des lactones macrocycliques.

La durée et l'intensité d'élimination du traitement anthelminthique dépendent notamment de la forme sous laquelle le traitement a été administré. La période d'excrétion intense est ainsi plus longue lors de traitements via un « bolus » que lors de traitements via des solutions injectables ou appliqués sur la ligne du dos dans le cas de formulation pour-on (dix à douze jours) (Virilouvet, 2005).

### **1.5.2.2. Résistance des parasites à ces molécules**

Une population parasitaire 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. Le déterminisme de la résistance étant génétique, elle se transmet d'une génération à l'autre au sein de la population de parasites gastro-intestinaux. L'utilisation non raisonnée des anthelminthiques constitue une pression environnementale importante sur la population de parasites. Elle conduit à la sélection des parasites devenus résistants au traitement du fait de mutations spontanées.

Plusieurs types de résistance ont été définis selon la capacité des parasites à résister à un ensemble de molécules ayant le même mode d'action (résistance de famille) ou à résister à des molécules ayant des modes d'action différents (résistance multiple).

La méthode la plus communément utilisée en élevage pour tester l'efficacité d'une molécule anthelminthique et éventuellement détecter un cas de résistance est le test de réduction d'excrétion fécale d'œufs de strongles (Fecal Egg Count Reduction Test - FECRT) (Coles et al. 1992).

Des coproscopies individuelles sont réalisées avant traitement pour évaluer le niveau d'infestation des individus. Un lot témoin et un lot qui recevra le traitement, chacun composé d'au moins dix animaux, sont créés. Le lot non témoin est ensuite traité avec la molécule dont on souhaite tester l'efficacité. Après 7 à 14 jours selon la molécule testée, de nouvelles coproscopies individuelles sont réalisées. On peut alors calculer le pourcentage de réduction d'excrétion fécale comme suit :

$$FECRT = \frac{OPG_{\text{témoin}} - OPG_{\text{traité}}}{OPG_{\text{témoin}}} \times 100$$

Si FECRT est inférieur à 95% et que la borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95% est inférieure à 90, la molécule utilisée est considérée comme inefficace. Si FECRT est supérieur à 95%, la molécule est considérée comme efficace.

#### **1.5.2.2.1 Etats des lieux**

Les premiers cas de résistance aux anthelminthiques sont apparus dans l'hémisphère Sud dans des pays comme l'Australie, la Nouvelle-Zélande ou l'Afrique du Sud où les conditions climatiques et les modes d'élevage intensifs sont favorables aux nématodes gastro-intestinaux. Le phénomène a ensuite pris une ampleur mondiale avec des signalements en Amérique et en Europe (Papadopoulos et al. 2012 ; Rose et al. 2015).

Aujourd'hui la situation est extrêmement préoccupante puisque des cas de résistance ont été décrits pour toutes les molécules anthelminthiques existantes sur le marché (Tableau 3).

Tableau 3 : Etat des lieux de la résistance aux anthelminthiques dans le monde (d'après Jabbar et al., 2006)

Famille	Espèce de nématodes	Pays	Référence
<b>Benzimidazoles</b>	<i>H. contortus</i>	Australie	Green et al., 1981
	<i>H. contortus</i>	Belgique	Domy et al., 1993
	<i>H. contortus</i>	France	Gruner et al., 1986
	<i>H. contortus</i> , <i>Trichostrongylus</i> , <i>Ostertagia spp.</i>	France	Kerboeuf et al., 1988
	<i>Sheep nematodes</i>	Nouvelle-Zélande	Kettle et al., 1982
	<i>H. contortus</i> , <i>Ostertagia spp.</i>	Amérique du Sud, Uruguay	Nari et al., 1996
<b>Imidazothiazoles</b>	<i>H. contortus</i> , <i>Trichostrongylus</i> , <i>Ostertagia spp.</i>	France	Kerboeuf et al., 1988
	<i>O. circumcineta</i>	Australie	Hall et al., 1979
<b>Salicylanilides</b>	<i>H. contortus</i>	Australie	Love et al., 1992
	<i>H. contortus</i>	Amérique du Sud, Brésil	Echevarria et al., 1996
<b>Lactones macrocycliques</b>	<i>H. contortus</i>	Afrique du Sud	van Wyk et al., 1997
	<i>H. contortus</i> , <i>Trichostrongylus spp</i>	Nouvelle-Zélande	McKenna et al., 1990
	<i>T. circumcineta</i>	Brésil	Amarante et al., 1997

On peut d'ailleurs noter que les premiers cas de résistance aux différents anthelminthiques sont apparus quelques années seulement après leur première commercialisation (Tableau 4). On peut citer l'exemple du monépantel, dernière molécule mise sur le marché en 2009, pour lequel les premiers cas de résistance ont été décrits dès 2013 chez des caprins en Nouvelle-Zélande (Scott et al. 2013), rapidement suivis par des cas en ovins en Uruguay (Medeiros et al. 2014) et aux Pays-Bas (Van den Brom et al. 2015).

Tableau 4 : Dates de commercialisation des principales molécules anthelminthiques et dates des premiers signalements de résistance (Kaplan, 2004 ; Scott et al., 2013)

Famille	Molécule	Date d'introduction sur le marché	Premiers signalements de résistance
Phénothiazine		1940	1957
Benzimidazoles	Thiabendazole	1961	1964
Imidazothiazoles	Levamisole	1970	1979
Lactones macrocycliques	Ivermectine	1981	1988
	Moxidectine	1991	1995
Monépantel		2009	2013

En France, les premiers cas de résistance ont été décrits dès les années 1990. Dans l'Ouest de la France, Chartier et al. (1998) ont observé une résistance aux benzimidazoles dans 83% des 23 exploitations ovines de leur étude ainsi qu'une résistance au lévamisole dans 50% des exploitations. Des études plus récentes menées dans des élevages allaitants ont rapporté des cas de résistance à la moxidectine et à l'ivermectine chez *Teladorsagia circumcincta* (Paraud et al. 2016) et aux benzimidazoles et à l'ivermectine chez *Teladorsagia circumcincta* (Milhes et al. 2017).

Des études de prévalence de résistance aux anthelminthiques ont également été menées en Aveyron et dans les Pyrénées-Atlantiques, deux des trois bassins de production ovin lait en France. Geurden et al. (2014) ont mené une étude sur cinq exploitations ovines par bassin et mis en évidence une résistance aux benzimidazoles (efficacité du traitement : 0 à 68%) et au netobimin (efficacité du traitement : 0 à 92%) dans toutes les exploitations suivies. La résistance à ces molécules a été observée chez les principaux genres de strongles gastro-intestinaux (*Teladorsagia*, *Haemonchus* et *Trichostrongylus*). Cependant, la moxidectine et l'ivermectine présentaient toujours une efficacité comprise entre 98 et 100%.

En France, le premier cas de multi-résistance à l'ivermectine et aux benzimidazoles dans l'espèce *H. contortus* a été décrit dans les Pyrénées-Atlantiques en 2018 par Cazajous et al. L'élevage dans lequel l'étude a été menée étant un élevage transhumant, il est très probable que cette population d'*H. contortus* multi-résistante aux anthelminthiques soit transmise aux autres troupeaux pâturant sur la même estive.

La situation est donc très préoccupante, en particulier en ovin lait où seule l'éprinomectine est efficace et autorisée sans délai d'attente pour le lait. On peut noter que l'éprinomectine, tout comme l'ivermectine, fait partie de la famille des lactones macrocycliques et partage donc un mode d'action commun avec cette dernière. On se trouve donc dans une situation à risque de développement de résistance à l'éprinomectine dans les deux grands bassins ovins lait de France.

### **1.5.2.2 Mécanismes de résistance**

Les strongles gastro-intestinaux ont développé des mécanismes de résistance spécifiques ou non spécifiques qui réduisent l'efficacité des traitements anthelminthiques.

Des mécanismes non spécifiques permettent une augmentation des capacités des parasites à éliminer les molécules anthelminthiques.

On trouve chez de nombreux organismes vivants, des protéines transmembranaires de la famille ABC (ATP-binding cassette) ayant pour rôle de transporter diverses molécules. Les recherches menées sur les mécanismes de résistance aux anthelminthiques chez les nématodes se sont plus particulièrement concentrées sur les P-glycoprotéines. Celles-ci agissent comme des pompes qui capturent et expulsent les molécules anthelminthiques hors de la cellule avant qu'elles ne puissent atteindre leur cible ou se trouver en concentration suffisante, limitant ainsi leur effet (Kerboeuf & Riou, 2011). La surexpression de ces protéines en réponse à l'usage massif des traitements anthelminthiques, conduit à une augmentation de l'efflux des molécules et ainsi au développement de la résistance aux anthelminthiques chez les parasites. Ces mécanismes désignés par le terme d'« efflux » ont été observés chez les nématodes résistants aux benzimidazoles et surtout aux lactones macrocycliques, en particulier aux avermectines et à la moxidectine (Prichard et al., 2012).

Les mécanismes spécifiques impliquent des mutations en un ou plusieurs loci qui confèrent aux individus porteurs une résistance à une ou plusieurs molécules anthelminthiques. Ces mutations entraînent une modification de la conformation du récepteur cible entraînant une réduction de l'affinité entre la molécule anthelminthique et le récepteur cible. Les mutations des individus résistants sont transmises à leurs descendants qui seront eux aussi résistants.

Par exemple, la résistance aux benzimidazoles est due à une mutation en position 167 ou en position 200 du gène de la  $\beta$ -tubuline. La phénylalanine est alors remplacée par une tyrosine conduisant à l'altération de la structure tridimensionnelle de la  $\beta$ -tubuline (Whittaker et al. 2016 ; Silvestre et

Cabaret, 2001). De même, une mutation des gènes codant pour les sous-unités du récepteur nicotinique à l'acétylcholine cause une diminution de l'affinité de ces récepteurs cibles pour le lévamisole. Ce phénomène, couplé à une diminution de l'expression des sous-unités de ces récepteurs chez les individus résistants, serait responsable de la résistance au lévamisole. Des phénomènes similaires impliquant les récepteurs au glutamate seraient à l'origine de la résistance aux molécules de la famille des lactones macrocycliques (Whittaker et al., 2016).

### **1.5.2.2.3 Facteurs favorisant le développement de la résistance aux anthelminthiques**

Le déterminisme de la résistance aux anthelminthiques chez les strongles gastro-intestinaux est génétique (Dobson et al., 1996). Cependant, de nombreux facteurs liés aux parasites eux-mêmes ou aux pratiques d'élevage peuvent favoriser la diffusion des gènes de résistance au sein de la population de parasites.

#### **Cycle de vie et prolificité des parasites**

La durée du cycle biologique des SGI étant courte, la diffusion dans la population des gènes de résistance est rapide (Prichard, 2001). Elle est d'autant plus rapide que l'espèce est prolifique.

#### **Une utilisation inappropriée des anthelminthiques**

L'utilisation répétée d'une même molécule ou de molécules partageant un même mode d'action exerce une pression de sélection importante sur les populations de parasites. Elle favorise le maintien des individus résistants alors que les individus sensibles sont éliminés, résultant en une augmentation de la proportion d'individus résistants dans la population de parasites (Wolstenholme et al. 2004 ; Jackson and Coop, 2000). Le risque est maximal lorsque la fréquence d'utilisation correspond à la période prépatente des strongles, soit trois semaines, car chaque nouvelle génération est alors soumise au traitement (Beugnet et Kerboeuf, 1997).

En France, les brebis des élevages ovins laitiers sont traitées 2 à 3 fois par an pour les adultes à des périodes clés du cycle de production (avant la lutte, avant l'agnelage et au tarissement) et jusqu'à 5 à 6 fois pour les agnelles dans leurs premières années de vie (P. Jacquet, communication personnelle). Des fréquences de traitements anthelminthiques identiques sont relevées en ovins allaitants.

Dans les élevages confrontés à la résistance aux anthelminthiques, une stratégie consistant à combiner des molécules appartenant à différentes familles est parfois employée. Elle repose sur le fait que les individus porteurs d'allèles de résistance à plusieurs molécules sont plus rares que les individus porteurs d'allèles de résistance à une molécule en particulier (Bartam et al, 2012). Cette stratégie permettrait ainsi de retarder l'apparition de résistance en éliminant les individus résistants à l'une ou l'autre molécule. Cette approche est cependant controversée car elle peut mener à des cas de multi-résistance si les pratiques en matière de fréquence de traitements ne changent pas (Vande Velde et al., 2018).

L'utilisation de produits rémanents peut également favoriser la sélection de parasites résistants en exerçant une pression de sélection permanente sur les populations de parasites (Beugnet et Kerboeuf, 1997).

Enfin les erreurs de dosage (sous-dosage et surdosage), souvent liées à une mauvaise estimation du poids de l'animal, ont également été identifiées comme pratiques à risque. Le sous-dosage permet la survie d'individus hétérozygotes alors que le surdosage favorise la sélection d'individus extrêmement résistants (Smith et al 1999).

### **Les pratiques d'élevage**

L'introduction d'animaux porteurs de SGI résistants dans un troupeau est un facteur de risque important (Silvestre et al., 2002). La transmission de strongles résistants à des animaux non infestés ou infestés par des strongles sensibles peut aussi avoir lieu entre lots d'animaux d'un même troupeau ou entre troupeaux lors de transhumance ou d'utilisation de pâturages communaux.

Traiter puis déplacer le troupeau sur un pâturage faiblement infesté ou non infesté est également une pratique à risque. En effet, cette pratique peut conduire à la contamination de la pâture saine par des parasites résistants aux anthelminthiques exclusivement (Van Wyk, 2001).



Les ovins élevés au pâturage sont exposés aux strongles gastro-intestinaux qui causent des dommages importants du fait de leur impact sur la santé des animaux et des pertes de production.

Le recours à grande échelle aux traitements anthelminthiques utilisés comme principale méthode de lutte contre les strongles gastro-intestinaux est aujourd'hui remis en cause du fait de résistances à ces molécules au sein des populations parasitaires. En France, le problème se pose particulièrement pour la production ovine laitière puisque seule l'éprinomectine peut être utilisée sans délai d'attente en période de lactation.

La mise en œuvre de méthodes complémentaires aux anthelminthiques pour lutter contre les strongles gastro-intestinaux est donc nécessaire (van Wyk et al.,1999).

## **2. Méthodes complémentaires pour le contrôle des strongles gastro-intestinaux**

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées en complément d'un usage raisonné des traitements anthelminthiques pour un contrôle plus durable du parasitisme gastro-intestinal. Elles peuvent être classées en trois principaux axes de lutte (Torres-Acosta et Hoste, 2008) :

- **Éliminer les strongles** : emploi raisonné des traitements anthelminthiques de synthèse et plantes à tanins
- **Limiter l'exposition des animaux aux strongles** : gestion des pâturages, bactéries et champignons nématophages pour décontaminer les pâturages
- **Renforcer la résistance de l'hôte** : vaccination, supplémentation en protéines, sélection génétique

### **2.1. Éliminer les strongles gastro-intestinaux au sein de l'hôte**

#### **2.1.1. Utilisation raisonnée des traitements anthelminthiques**

##### **2.1.1.1. Population refuge**

La population refuge est définie comme la part de la population de parasites qui n'est pas exposée à un traitement anthelminthique (van Wyk, 2001). Elle comprend les stades libres présents sur les pâtures et les parasites présents dans les animaux qui ne sont pas traités, ainsi que les générations de parasites qui se développent entre deux traitements. Des parasites sensibles aux molécules anthelminthiques peuvent ainsi réaliser leur cycle biologique complet et transmettre leurs gènes de sensibilité aux générations suivantes. Cela permet de diminuer la fréquence des allèles de résistance dans la population parasitaire globale et donc de prolonger l'efficacité des anthelminthiques (Kenyon et al. 2009). Maintenir une population refuge, qui n'est pas soumise à la pression de sélection exercée par l'usage régulier de traitements anthelminthiques, est donc très important pour la lutte contre la résistance aux anthelminthiques (Besier, 2012).

### **2.1.1.2. Nouvelles pratiques pour le contrôle des infestations parasitaires**

De nouvelles pratiques dans l'utilisation des traitements anthelminthiques sont aujourd'hui proposées afin de préserver l'efficacité de ceux-ci. Elles devraient, en complément d'autres méthodes de contrôle des parasites gastro-intestinaux, remplacer l'utilisation répétée et systématique des traitements.

Deux stratégies ont fait l'objet d'un effort de recherche important : le traitement sélectif et le traitement ciblé. Elles visent toutes deux à maintenir une population refuge parmi les parasites.

Le **traitement sélectif** (« Targeted Selective Treatment », TST) consiste à ne traiter que les animaux du troupeau qui en ont vraiment besoin.

Cette stratégie se base sur l'existence du phénomène d'agrégation. Au sein d'un troupeau, environ 15 à 20% des individus peuvent héberger jusqu'à 80% des parasites. La répartition des parasites est dite surdispersée (Shaw & Dobson, 1995 ; Gabba et al., 2005). Une autre possibilité est de traiter l'ensemble du troupeau à l'exception des animaux qui tolèrent le mieux le parasitisme. Les animaux à traiter peuvent être choisis sur la base d'indicateurs reflétant le niveau d'infestation tels que la note FAMACHA ou le dag score et d'indicateurs de production tels que la NEC ou le GMQ par exemple. Plusieurs études ont démontré l'efficacité du traitement sélectif, aussi bien chez les petits ruminants que chez les bovins (Gallidis et al., 2009; Busin et al., 2013 ; Laurenson et al., 2016).

La stratégie de **traitement ciblé** (« Targeted Treatment », TT) consiste à traiter l'ensemble du troupeau ou d'un lot mais uniquement lors de périodes à risque.

Les périodes à risque sont définies en fonction de l'historique de l'exploitation en termes de conduite des prairies, de population parasitaire (pic de contamination des prairies par les larves) et de la conduite du troupeau. Elles peuvent varier d'une exploitation à l'autre ou d'une année à l'autre pour une même exploitation en fonction des conditions météorologiques qui auront un impact sur la dynamique des populations de parasites. Un suivi régulier est donc nécessaire pour définir au mieux ces périodes. Réaliser des coproscopies de groupe notamment peut s'avérer très utile tout en restant moins coûteux qu'un suivi avec des coproscopies individuelles (Morgan et al., 2005 ; Jacquet et al., 2015).

### 2.1.2. Action des plantes à tanins sur les parasites

Les tanins sont des métabolites secondaires de certaines plantes. Leur production apporte aux plantes une protection contre les prédateurs (herbivores, insectes, bactéries ou champignons). On trouve des tanins dans certains fourrages, notamment chez des plantes de la famille des légumineuses telles que le sainfoin (*Onobrychis viciifolia*), le lotier pédonculé (*Lotus pedunculatus*), le lotier corniculé (*Lotus corniculatus*) ou encore le sulla (*Hedysarum coronarium*).

On distingue deux sortes de tanins :

- les tanins hydrolysables qui sont hydrolysés dans le tractus digestif des ruminants et peuvent être responsables d'effets toxiques.
- les tanins condensés, beaucoup moins toxiques puisqu'ils ne traversent pas la barrière intestinale.

De nombreuses études ont montré que la consommation de plantes riches en tanins s'accompagnait d'une diminution des OPG chez les ovins et les caprins. Athanasiadou et al. (2000) ont ainsi observé une réduction de 50% des OPG et de 30% de la charge parasitaire chez des ovins infestés par *Trichostrongylus colubriformis* et ayant reçu des tanins condensés à hauteur de 8% de leur ration.

A la différence des molécules anthelminthiques qui ont un effet létal sur les SGI, les tanins agiraient en régulant la biologie des strongles. Deux hypothèses non-exclusives sont avancées pour expliquer l'action des plantes à tanins :

- ils agiraient directement sur la biologie de certains stades de vie du parasite
- ils amélioreraient la nutrition de l'hôte en protégeant les protéines d'origine alimentaire des dégradations ruminales.

**Action directe** : Les stades de vie affectés sont les larves infestantes L3, les vers adultes et les œufs en développement. Les propriétés anthelminthiques des tanins sont dues à leur capacité à se lier aux protéines et aux glycoprotéines de la gaine des larves L3 et de la cuticule ou de l'épithélium digestif des vers adultes (Hoste et al., 2006). Il a été démontré *in vitro* et *in vivo* que les tanins condensés ont un effet sur la motilité et la capacité à migrer des larves L3 des SGI (Molan et al., 2000 ; Paolini et al., 2004). Les tanins pourraient affecter une étape clé de l'invasion de l'hôte par les larves L3 en inhibant la sortie des larves de leur gaine (Bahuaud et al., 2006). De plus, les tanins agiraient sur la fécondité des vers femelles adultes (Athanasiadou et al., 2000).

**Action indirecte :** En se liant aux protéines d'origine alimentaire, les tanins protégeraient celles-ci des dégradations ruminales. Cela aurait pour effet d'augmenter le flux de protéines et l'absorption des acides aminés au niveau des intestins.

Néanmoins, les effets des tanins peuvent être variables selon l'espèce de nématodes et la localisation du nématode au sein de l'hôte car la capacité des tanins à se lier aux protéines dépendrait du pH (Mueller-Harvey, 2006). De plus, ils peuvent être toxiques pour les ruminants au-delà d'une certaine concentration dans la ration. Leur consommation peut être associée à des dysfonctionnements du rumen liés à une inhibition de la flore présente dans le rumen si leur part dans la ration est supérieure à 40 à 50 g/kg de matière sèche (Barry & McNabb, 1999).

## **2.2. *Limiter l'exposition des animaux aux strongles gastro-intestinaux***

### **2.2.1. *Comportement des animaux au pâturage***

Trois types de comportements au pâturage permettraient aux animaux de contrôler les infestations par les strongles gastro-intestinaux.

#### **Stratégie d'évitement :**

Certains animaux ont tendance à éviter de pâturer dans des zones contaminées par des matières fécales. Ce comportement contribue à la création de zones avec des herbes hautes et contaminées par des fèces et de zones non contaminées où l'herbe est plus courte. Les œufs de parasites étant déposés dans la pâture via les fèces, les stades libres se concentrent généralement autour des matières fécales. Cela résulte en une distribution hétérogène des ressources alimentaires et des larves infestantes sur la pâture (Boag et al., 1989), confrontant l'animal à un compromis entre nutrition et parasitisme (Hutchings et al., 2002). Cette stratégie d'évitement permettrait donc aux animaux de limiter leur niveau d'infestation. Il a d'ailleurs été montré que les animaux les plus affectés par le parasitisme ont tendance à pâturer plus loin des matières fécales afin d'éviter une nouvelle infestation (Seó et al., 2015 ; Cooper et al., 2000 ; Hutchings et al., 2002).

**Sélection de certaines ressources alimentaires :**

Plusieurs études ont montré que les animaux parasités adoptent un régime alimentaire plus riche en protéines qui peuvent aider à compenser les pertes dues au parasitisme par les SGI et augmenter l'efficacité de leur réponse immunitaire. Ainsi des moutons infestés par des SGI choisissent un régime alimentaire plus riche en trèfle relativement riche en azote que des moutons non parasités (Cosgrove & Niezen, 2000).

**Ingestion de plantes à tanins :**

Des comportements d'automédication par ingestion de plantes à tanins ont été observés chez les ruminants infestés par des SGI (Villalba et al., 2014 ; Hutchings et al., 2003). Des agneaux parasités présentaient une plus grande appétence pour des plantes contenant des tanins que les agneaux non parasités. Cette différence n'était plus observée après traitement (Villalba et al., 1999).

**2.2.2. La conduite au pâturage**

Une gestion raisonnée des pâtures peut permettre de minimiser le contact entre les animaux et les larves infestantes de SGI. Différents leviers peuvent être utilisés (Stear et al., 2006).

**Densité au pâturage :**

Réduire le chargement par hectare permet de réduire la densité d'œufs de SGI déposés sur une pâture. Cela permettrait donc de diminuer le niveau de contamination et de permettre aux animaux d'éviter de pâturer près des fèces.

**Gestion des lots d'animaux :**

Les jeunes animaux sont les plus sensibles aux SGI, en particulier lors de la première mise à l'herbe. Il est préférable de les placer sur les parcelles les plus saines.

**Mise au repos des parcelles :**

En l'absence d'animaux sur la pâture, les larves infestantes ne seront pas ingérées et seront soumises à l'action du froid et au phénomène de dessiccation auxquels elles sont sensibles (O'Connor et al., 2006). Leur viabilité et leur pouvoir infestant va alors diminuer avec le temps. Une mise au repos des

pâtures peut ainsi permettre un assainissement des pâtures. Toutefois dans les régions tempérées, les larves peuvent survivre plusieurs mois voire une année (O'Connor et al., 2006).

Comme évoqué au paragraphe 1.2, la température et l'humidité sont les éléments clés déterminant le taux de succès et la vitesse du développement des stades libres jusqu'au stade de larves infestantes (L3). Les premiers stades de la phase de vie libre (L1 et L2) présentent une plus forte sensibilité aux températures extrêmes et à la dessiccation que les larves infestantes (L3). Les larves infestantes L3 peuvent survivre plusieurs semaines à faible température mais elles sont détruites par le gel. Par exemple, des larves L3 de *H. contortus* sont encore viables après 10 semaines dans l'eau à 3°C mais seulement 1% reste viable après 24 heures à -10°C (Jasmer et al., 1987).

### **Gestion des parcelles :**

Différents modes de gestion des pâtures permettant de limiter l'exposition du troupeau aux parasites existent, notamment le pâturage au fil, le pâturage tournant ou encore le pâturage cellulaire. Ces différents types de gestion du pâturage sont supposés ralentir l'augmentation de la pression parasitaire. Le pâturage au fil consiste à délimiter une partie de la parcelle à laquelle auront accès les animaux. On donne ainsi accès à une nouvelle portion chaque jour tout en empêchant le retour sur la portion pâturée la veille. Le pâturage tournant consiste à organiser la parcelle en paddocks. Les animaux restent sur un paddock entre 2 et 7 jours puis on les déplace sur le paddock voisin. Le pâturage cellulaire consiste à diviser la parcelle en cellules sur lesquelles les animaux pâturent 1 à 2 jours maximum avant de changer de cellules. Les temps de pâturage sont séparés par des périodes de repos des paddocks ou des cellules.

Selon une étude australienne, la conduite du troupeau en alternant une courte période de pâturage (5 jours en moyenne) et de longue période de repos (103 jours en moyenne) permettrait de réduire la charge parasitaire des animaux (Colvin et al., 2008). Les lots menés au pâturage cellulaire présentaient des OPG près de deux fois inférieurs à ceux des lots pâturant une même parcelle sur de longues périodes, et ce avec une fréquence de traitement divisée par deux. Cette gestion du pâturage permet d'éviter que les animaux ne se ré-infestent puisque le temps passé sur une parcelle est trop court pour que les œufs excrétés ne se développent en larves infestantes. Les temps de retour longs permettent un assainissement des parcelles entre deux passages.

Lors d'une étude menée en France, les taux d'excrétions d'œufs de strongles n'étaient pas inférieurs chez les brebis en pâturage cellulaire (temps de séjour de 24 à 48h et temps de repos de 45 à 47 jours) que chez les brebis en pâturage tournant (temps de séjour de 7 jours et temps de repos de 35 à 38 jours) (Ruiz-Huidobro et al., 2019). Une hypothèse permettant d'expliquer ce résultat est que, même si les temps de séjour étaient plus courts en pâturage cellulaire, les périodes de repos n'étaient pas

suffisamment longues pour assainir les pâtures. Elles étaient notamment deux fois plus longues dans l'étude australienne citée précédemment.

Néanmoins les deux études s'accordent sur l'impact du type de pâturage sur l'helminthofaune avec une plus faible proportion de *H. contortus* observée lorsque l'on réduit le temps de séjour sur une parcelle.

### **Pâturage mixte :**

Une autre méthode de gestion du pâturage permettant de réduire la pression parasitaire est le pâturage mixte entre bovins et petits ruminants. Celui-ci permet un assainissement des pâtures par les bovins pour les petits ruminants et réciproquement du fait de la spécificité des strongles gastro-intestinaux. L'ingestion d'une larve infestante d'un parasite spécifique des ovins par un bovin aboutira à la mort de la larve ingérée sans qu'elle ne puisse se développer ni causer des dommages chez l'animal. Des études ont montré que le pâturage mixte permet une diminution conséquente des infestations aussi bien en pâturage alterné (Southcott & Barger, 1975) qu'en pâturage simultané (Mahieu et al., 1997). En Aveyron, le pâturage simultané entre brebis Lacaune et bovins a conduit à une réduction de 30% du nombre d'œufs excrétés dans les fèces la première année puis de 60% les deux années suivantes chez les brebis conduites avec des bovins par rapport aux brebis conduites seules (Hoste et al., 2009). Le pâturage mixte aurait surtout un effet sur *H. contortus*, qui est très pathogène pour les ovins du fait de son régime hématophage (Mahieu et al., 1997 ; Hoste et al., 2009).

Si le pâturage mixte a fait la preuve de son efficacité pour le contrôle des SGI, il peut présenter certains risques. D'une part, il existe des espèces de strongles communes aux petits ruminants et aux bovins telles que *Trichostrongylus axei* qui peuvent être transmises d'un hôte à un autre. De plus, même si ce risque est limité, des cas d'adaptation de strongles spécifiques d'un hôte à un autre hôte ont pu être observés (Southcott & Barger, 1975). D'autre part, le pâturage mixte peut présenter des risques pour la transmission d'autres agents pathogènes. En effet, le risque principal associé au pâturage mixte concerne les trématodes (Hoste et al., 2009) du fait de risques de transmission entre petits et grands ruminants de *Fasciola hepatica* (grande douve du foie hématophage) et de *Dicrocoelium lanceolatum* (petite douve du foie). Enfin, le pâturage mixte est le facteur de risque principal du coryza gangréneux puisque la contagion des bovins se fait essentiellement par contact avec des ovins porteurs sains du virus.

Ainsi, le pâturage mixte entre petits ruminants et bovins peut être une méthode de contrôle des SGI pertinente, en particulier dans les régions où il existe traditionnellement des systèmes d'élevage mixtes. Il doit cependant s'accompagner d'un suivi régulier des animaux du fait des risques évoqués ci-dessus.



L'alternance ovins-caprins ne présente, elle, pas d'intérêt pour le contrôle du parasitisme gastro-intestinal car ovins et caprins partagent les mêmes parasites. Ce sera même au contraire un facteur de risque de transmission de parasites résistants aux traitements anthelminthiques entre les deux espèces.

### **2.2.3. Bactéries et champignons nématophages**

De nombreux organismes du sol sont des prédateurs naturels des strongles gastro-intestinaux (Gronvold et al., 1996). L'utilisation de bactéries et surtout de champignons nématophages a ainsi été largement étudiée et représente une autre stratégie possible pour le contrôle des infestations par les SGI.

Certains champignons de la microflore du sol ont la capacité de piéger les stades de vie libre des SGI. De nombreux champignons présentent cette propriété mais le plus étudié reste *Duddingtonia flagrans* (Larsen, 2000). *D. flagrans* développe des structures mycéliennes grâce auxquelles il va pouvoir piéger les larves des SGI puis passer la barrière de leur cuticule entraînant ainsi leur destruction (da Cruz et al., 2011). Les spores de ce champignon restent viables même après passage dans le tractus digestif des animaux d'élevage et conservent leur capacité à piéger les larves de strongles (Braga & Araújo, 2014). Cela a été démontré aussi bien chez les bovins (Assis et al., 2013) que chez les petits ruminants (Rocha et al., 2007 ; Campos et al., 2009). Des études ont montré des réductions du nombre de larves allant jusqu'à plus de 90% en ovin et en caprin (Paraud et al., 2006 ; Waghorn et al., 2003) et de la charge parasitaire à l'intérieur de l'hôte (Fontenot et al., 2003). Néanmoins, pour atteindre ces niveaux d'efficacité les spores doivent se développer de façon concomitante avec les larves de strongles gastro-intestinaux (Faedo et al., 2000). Deux principaux freins apparaissent alors pour l'utilisation de ces champignons nématophages en ferme.

Le premier concerne la forme sous laquelle les champignons pourraient être distribués aux animaux. En effet, pour obtenir les meilleurs résultats, les spores doivent être distribuées aux animaux très fréquemment, à savoir tous les deux à trois jours (Charlier et al., 2017) voire quotidiennement pendant 1 à 2 mois (Paraud & Chartier, 2002). Les doses optimales ont été estimées à  $1 \times 10^6$  spores/kg de poids vif chez les bovins et à 2,5 à  $5 \times 10^6$  spores/kg de poids vif chez les petits ruminants (Ketzis et al., 2006 ; Paraud et al., 2005). Une distribution à l'auge au moment de la traite semble envisageable pour les troupeaux laitiers (Paraud & Chartier, 2002). Pour les troupeaux allaitants, une distribution sous forme de bloc à lécher pourrait être envisagée mais se pose alors la question du contrôle de la dose ingérée par chaque individu. L'intérêt de cette technique semble donc plus limité en élevage allaitant (Paraud & Chartier, 2002).

Le deuxième frein est le contrôle de l'éclosion et de la croissance des spores. L'utilisation de *D. flagrans* pour le contrôle des SGI ne représente une stratégie efficace que si les spores se développent suffisamment vite pour capturer et détruire les larves avant qu'elles ne migrent vers le milieu environnant (Faedo et al., 2000). Lors d'essais en ferme, des résultats variables ont été observés selon les saisons lorsque les conditions environnementales étaient défavorables (Chartier & Pors, 2003 ; Ketzis et al., 2006), voire une absence d'effet dans certains cas (Faessler et al., 2007).

Les bactéries du genre *Bacillus*, dont *B. thuringiensis* en particulier, sont également étudiées pour leur toxicité vis-à-vis des SGI.

Les propriétés insecticides des cristaux protéiques contenus dans les spores de ces bactéries sont bien connues (Wei et al., 2003). Ces cristaux protéiques sont activés lors de leur passage dans le tube digestif de l'insecte. Ils se lient alors à des récepteurs ce qui leur permet de s'insérer dans la membrane intestinale et ainsi de former des pores, conduisant ainsi à la mort de l'insecte (Marroquin et al., 2000). Plusieurs études ont permis de mettre en évidence la toxicité des spores de ces bactéries vis-à-vis des nématodes, notamment *Caenorhabditis elegans* (Leyns et al., 1995 ; Marroquin et al., 2000) puis *H. contortus*, *T. colubriformis* et *O. circumcincta*, les trois principales espèces de strongles chez les ovins (Kotze et al., 2005 ; Sinott et al., 2012). L'effet toxique des bactéries du genre *Bacillus* serait d'autant plus fort que l'exposition des stades libres à ces bactéries est précoce (O'Grady et al., 2007). Il a été démontré que ces bactéries agissent sur les stades larvaires en inhibant leur développement (Sinott et al., 2012). Leur toxicité serait moindre vis-à-vis des stades infestants et des adultes pour lesquels l'action de ces bactéries consisterait plutôt à limiter leur capacité de migration et donc leur capacité à infester les animaux (Sinott et al., 2012 ; Kotze et al., 2005).

Des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer sous quelle forme ces bactéries pourraient être utilisées. Une possibilité serait de les administrer par voie orale aux animaux. Cependant les cristaux de *B. thuringiensis* présenteraient une toxicité fortement réduite pour les larves de strongles après une exposition à des conditions de pH acide (Kotze et al., 2005). Il faudrait donc mettre au point une formulation permettant de protéger les spores des conditions acides du tractus digestif des ruminants.

## **2.3. Renforcer la réponse immunitaire de l'hôte**

### **2.3.1. Description de la réponse immunitaire de l'hôte**

Chez les ovins, la réponse immunitaire commence à se mettre en place autour de l'âge de 3 mois (Bishop et al., 1996) et se développe lors des contacts successifs entre les individus et les strongles gastro-intestinaux (Seaton et al., 1989). Une fois adultes, les individus exposés à des infestations régulières sont généralement capables de maintenir une réponse immunitaire efficace et de résister aux infestations parasitaires (McKenna, 1981). Il faut cependant souligner qu'il existe une grande variabilité interindividuelle comme nous le verrons dans la partie 2.3.4.

#### **2.3.1.1. Mécanismes mis en jeu**

La réponse immunitaire fait appel à des mécanismes relevant de deux systèmes qui sont liés : la réponse innée (non spécifique) et la réponse acquise (spécifique) (Clark and Kupper, 2005).

#### **Réponse immunitaire innée :**

La réponse immunitaire innée est mise en place rapidement après l'infestation de l'individu par les larves infestantes. La muqueuse du tractus gastro-intestinal joue le rôle de barrière physique à l'établissement et à la survie des larves de strongles gastro-intestinaux et est impliquée dans la reconnaissance des antigènes larvaires et l'activation de la réponse immunitaire acquise (McRae et al., 2015).

Deux phénomènes physiques sont associés à la réponse innée à une infestation parasitaire. Plusieurs études ont montré que l'infestation est suivie d'une augmentation de la production de mucus par les cellules qui se situent à la surface du tractus gastro-intestinal (Harrison et al., 1999 ; Harrison et al., 2003). Le mucus est composé en grande partie de protéines appelées mucines qui lui donnent une consistance visqueuse et de molécules ayant une action antimicrobienne ou de stimulation de l'inflammation. La contractilité des muscles lisses entériques serait également modifiée en réponse à l'infestation. Une corrélation négative entre la concentration en bradykinine qui favorise la dilatation et la contraction des muscles lisses et le nombre des parasites adultes chez des ovins infestés par *T.circumcincta* a été mise en évidence (Williams, 2012).

Des cellules de l'immunité innée, telles que les cellules dendritiques ou les macrophages, jouent un rôle dans la reconnaissance des larves. Ces cellules portent des récepteurs cellulaires appelés PRR (Pattern Recognition Receptor) qui reconnaissent des motifs moléculaires caractéristiques de l'agent infectieux appelés PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns). Elles sont ainsi capables

d'identifier et internaliser des antigènes puis de migrer vers les ganglions lymphatiques où elles vont activer les lymphocytes T naïfs. Elles participent ainsi au déclenchement de la réponse immunitaire acquise en activant la différenciation et la prolifération des lymphocytes T.

### Réponse immunitaire acquise :

La réponse immunitaire mise en place suite à une infestation parasitaire est de type Th2. Elle implique la production de différentes cytokines (IL-4, IL-5 et IL-13), d'éosinophiles, de basophiles et de mastocytes.

La production d'interleukine 4 (IL-4) induit la différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes Th2 et inhibe la différenciation en lymphocytes Th1. Une fois activés, les lymphocytes Th2 vont produire eux-mêmes de l'IL-4 créant ainsi une rétroaction positive, ainsi que d'autres cytokines dont IL-5, IL-9, IL-13.

L'IL-4 va induire la production d'anticorps IgE par les lymphocytes B. Cet anticorps a la propriété de se lier au récepteur Fc présent à la surface des mastocytes. Lorsqu'il est lui-même lié à un antigène provenant du parasite, il va déclencher la dégranulation des mastocytes entraînant ainsi la libération de molécules qui vont stimuler la contractilité des muscles lisses du tractus digestif de l'hôte. L'IL-4 va également activer les cellules impliquées dans la réparation des tissus.

L'IL-5 va d'une part activer les plasmocytes qui vont produire des anticorps IgA et d'autre part induire la différenciation, l'activation puis la dégranulation des éosinophiles.

L'IL-13 joue un rôle dans la réparation des cellules épithéliales et stimule la production de mucus. Associée à l'IL-9, l'IL-13 active également la dégranulation des mastocytes.

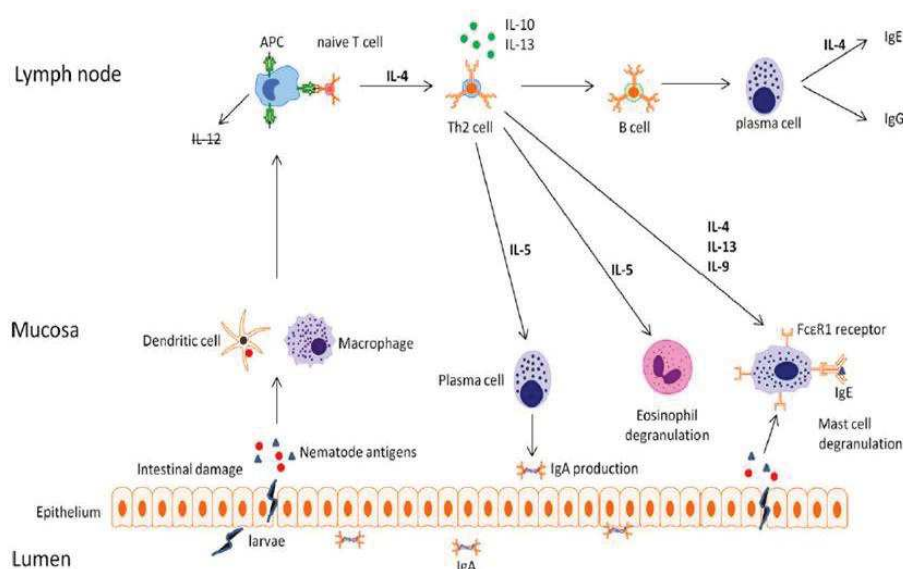


Figure 3 : La réponse immunitaire aux strongles gastro-intestinaux chez les ovins (McRae et al., 2015).

### **2.3.1.2. Etapes du cycle biologique des strongles gastro-intestinaux affectées par la réponse immunitaire**

La réponse immunitaire va agir sur différents traits de vie du parasite : établissement des larves infestantes dans la muqueuse de l'organe cible, croissance des vers adultes, fertilité des femelles et espérance de vie des adultes (Stear et al., 1995).

La production de mucus associée à une motilité intestinale plus importante aurait une action préventive en empêchant l'établissement des larves.

Il a été montré *in vitro* que les éosinophiles sont capables de réduire la motilité des larves infestantes du parasite *H. contortus*, les empêchant ainsi de s'établir dans la muqueuse de la caillette. Cela s'est traduit par une diminution de la charge parasitaire et donc du nombre d'œufs excrétés dans les fèces chez des agneaux infestés avec des larves préalablement mises en contact avec des éosinophiles activés (Terefe et al., 2007).

Plusieurs études se sont intéressées au rôle des IgA dans la résistance aux SGI. Cet anticorps interviendrait principalement dans le contrôle de la taille des vers adultes et donc de la fécondité des femelles adultes (Stear et al., 1995). En effet la fécondité des vers femelles est étroitement liée à leur taille (Rowe et al., 2008). Il a été estimé que la variation de la réponse IgA dans la muqueuse abomasale pourrait expliquer jusqu'à 40% de la variation de la longueur et de la fécondité des femelles (Stear et al., 1995).

### **2.3.1.3. Effet de l'âge et du statut physiologique**

Les individus sont particulièrement sensibles aux strongles gastro-intestinaux à deux périodes de leur vie : le jeune âge et la période du *peripartum* chez les femelles adultes.

Comme évoqué précédemment, les jeunes individus sont généralement plus sensibles aux infestations parasitaires que les adultes. Leur réponse immunitaire se développe au cours de leur première année de vie au pâturage (Colditz et al., 1996). Cette sensibilité accrue chez les jeunes individus est en grande partie due au fait que les animaux sont naïfs à l'égard des SGI et qu'ils n'ont donc pas développé leur immunité acquise. Elle serait également due à une réactivité moindre de leur système immunitaire qui n'est pas encore complètement mature (Colditz et al., 1996). Douch & Morum (1993) ont ainsi observé des OPG significativement plus élevés chez les moutons de 4 mois que chez ceux de 28 mois

alors que tous les individus étaient logés en bâtiment avant l'infestation et donc naïfs au début de l'infestation expérimentale.

On observe un relâchement de la réponse aux strongles gastro-intestinaux, appelé « periparturient relaxation of immunity » dans la littérature, chez les femelles adultes en *peripartum* (fin de la gestation et début de lactation).

En comparant des brebis gestantes et non gestantes, Beasley et al. (2010) ont étudié le relâchement de l'immunité qui précède un pic d'excrétion d'œufs chez les brebis gestantes. Il se traduit par une moindre production d'éosinophiles et d'anticorps chez les brebis gestantes que chez les brebis non gestantes. Leur nombre reste faible chez les femelles en lactation alors qu'il augmente rapidement s'accompagnant d'une réduction de la charge parasitaire et des OPG chez les brebis dont les agneaux ont été sevrés.

Ce phénomène est probablement dû au stress nutritionnel que rencontrent les femelles à cette période de leur cycle de production. En effet, leurs besoins en nutriments augmentent fortement en fin de gestation alors que leur capacité d'ingestion diminue car le fœtus grandit fortement au cours du dernier tiers de la gestation. De même en début de lactation, les besoins nutritionnels des femelles sont très importants et ne sont, en général, pas couverts. Les fonctions de reproduction étant prioritaires sur la fonction immunitaire (Coop & Kyriazakis, 1999), la réponse immunitaire est moins efficace. Le nombre d'œufs excrétés par les femelles est alors très élevé (phénomène appelé « periparturient rise » dans la littérature) (Dunsmore, 1965). Cela a pour conséquence une forte contamination des pâtures par les larves infestantes (Brunsdon, 1971). Ainsi les femelles autour du part deviennent une importante source d'infestation des pâtures et indirectement pour leurs agneaux (Donald & Waller, 1973).

### **2.3.2. Vaccination**

Un premier outil pour renforcer la capacité de l'hôte à résister à une infestation parasitaire est la vaccination.

La vaccination consiste à mettre en contact le système immunitaire de l'hôte avec les antigènes d'un agent pathogène afin de le stimuler et de déclencher la mise en place d'une réponse immunitaire efficace en prévention de futures infections. Les vaccins offrent ainsi une protection durable à l'hôte contre les agents pathogènes ciblés.

Les vaccins peuvent être synthétisés à partir de deux types d'antigènes :

- Les antigènes « naturels » qui sont présents à la surface de la cuticule des strongles, en particulier les larves. Ils vont déclencher le développement d'une réponse immunitaire acquise.
- Les antigènes « cachés » qui sont présents à l'intérieur du parasite et ne sont donc pas exposés au système immunitaire de l'hôte lors d'une infestation naturelle (Bassetto & Amarante, 2015). La vaccination va stimuler la production d'anticorps spécifiques à ces antigènes qui vont circuler dans le sang de l'hôte.

A l'heure actuelle, Barbervax<sup>®</sup> (Wormvax Australia Pty Ltd) est le seul vaccin commercialisé pour lutter contre *H. contortus* chez les petits ruminants (Matthews et al., 2016).

Ce vaccin repose sur l'utilisation de certains antigènes cachés. Il contient des enzymes (H11 et H-gal-GP) situées à la surface des cellules intestinales chez *H. contortus* et impliquées dans la digestion du sang de l'hôte par le parasite. Lors d'une infestation, les parasites hématophages vont ingérer les anticorps produits par l'hôte vacciné en se nourrissant de son sang. Les anticorps vont se lier à leur cible et réduire la capacité des parasites à se nourrir et donc les affaiblir (Smith, 2014). L'efficacité de ce vaccin a été prouvée avec notamment une réduction d'excrétion d'œufs de 70 à 85% chez des agneaux en Australie (Smith, 2014).

Néanmoins le nombre d'injections nécessaires pour conserver une protection suffisante peut représenter un frein important pour son utilisation en élevage. Comme le vaccin repose sur des antigènes cachés, c'est-à-dire des protéines auxquelles le système immunitaire de l'hôte n'est pas exposé lors d'une infestation naturelle, il est nécessaire d'administrer le vaccin régulièrement aux animaux afin de stimuler le système immunitaire de l'hôte. Les animaux n'ayant jamais été vaccinés auparavant doivent recevoir trois doses avant de bénéficier d'un niveau de protection efficace. Puis des rappels doivent être administrés toutes les six semaines (Besier et al., 2015).

### **2.3.3. Supplémentation en protéines**

Une infestation par des strongles gastro-intestinaux engendre chez l'hôte une perte importante de plasma dans le tractus gastro-intestinal, une diminution de l'ingestion, une réduction de l'absorption des nutriments et une réorientation de l'utilisation des protéines vers la réponse immunitaire et la réparation des tissus (Coop & Holmes, 1996). Ces effets dépendent du niveau d'infestation et du statut physiologique de l'animal (Coop et al., 1982). Les études s'accordent à dire que les pertes sont principalement protéiques (Brown et al., 1991).

Une supplémentation en protéines peut bénéficier aux hôtes de deux façons :

- répondre aux besoins supplémentaires dus à la réponse immunitaire et ainsi augmenter leur résistance aux infestations parasitaires.
- leur permettre de maintenir leur capacité de production malgré l'infestation (Knox et al., 2006).

En termes de résistance, la supplémentation en protéines ne semble pas agir sur l'installation des larves mais va plutôt améliorer la réponse immunitaire face aux vers adultes. Cela va se traduire par une réduction de la taille des strongles femelles et donc de l'excrétion d'œufs chez les animaux supplémentés (Wallace et al., 1995). Les individus recevant une supplémentation en protéines produisent des anticorps IgA en plus grande quantité, ce qui leur permettrait de réguler plus efficacement la taille et la fécondité des vers qu'ils hébergent (Strain & Stear, 2008). Des résultats similaires ont été obtenus dans l'espèce caprine vis-à-vis d'*H. contortus* (Cériac et al., 2019).

Les capacités de production sont également augmentées. Une meilleure qualité de la carcasse est observée chez des agneaux infestés de façon répétée avec *H. contortus* et supplémentés en protéines que chez les agneaux non supplémentés (Wallace et al., 1995). Le gain de poids et la production de laine augmentent chez des agneaux naturellement infestés au pâturage et supplémentés en protéines (Steel, 2003).

La supplémentation en protéines aiderait également les animaux à contrebalancer les effets physiologiques de l'infestation tels que la perte d'appétit. Une explication possible est que les strongles adultes, plus petits et moins actifs chez les hôtes supplémentés, prélèvent une moindre quantité de sang chez l'hôte. Les effets de l'infestation seraient donc réduits (Strain & Stear, 2008).

La supplémentation en protéines peut se révéler particulièrement utile chez les femelles en fin de gestation et en début de lactation pour limiter l'augmentation d'excrétion d'œufs liée au relâchement de l'immunité à cette période (Houdijk et al., 2001).

Enfin, l'effet de cette supplémentation est important chez les races sensibles au parasitisme gastro-intestinal alors qu'il semble plus limité chez des races plus résistantes comme les races tropicales ou les races rustiques adaptées au pâturage (Steel, 2003).



### **2.3.4. Sélection génétique**

La sélection génétique a pour but d'obtenir des individus de plus en plus performants génération après génération en choisissant les meilleurs reproducteurs au sein d'une population. Elle est rendue possible par l'existence d'une variabilité en partie d'origine génétique entre les animaux pour le caractère que l'on souhaite améliorer. Dans cette partie nous nous attacherons donc à démontrer l'existence de cette variabilité pour la résistance au parasitisme et nous évoquerons les différentes stratégies qui peuvent être mises en œuvre pour en tirer parti. Nous nous intéresserons également à l'identification de régions du génome impliquées dans la résistance au parasitisme. Il ne sera fait dans cette partie qu'un état des lieux, les méthodes seront présentées dans la partie 3 de cette revue bibliographique.

#### **2.3.4.1. Variabilité génétique de la résistance de l'hôte**

Comme évoqué précédemment, la distribution des strongles gastro-intestinaux au sein d'une population hôte est surdispersée : une majorité des individus est peu infestée alors qu'un petit nombre d'individus est très infesté. Cela s'explique, d'une part, par la répartition spatiale hétérogène des larves infestantes sur la pâture à l'origine de l'ingestion d'un nombre variable de larves infestantes par les hôtes et, d'autre part, par une variabilité de la réponse des hôtes aux infestations.

Chez les petits ruminants, l'existence d'une variabilité inter-race de la résistance au parasitisme a fait l'objet de nombreuses études. La plupart des races résistantes sont des races tropicales ou subtropicales comme les races Red Massai, Florida Native, Gulf Coast Native, Barbados Blackbelly et Ste Croix en ovin ou encore la race Créole chez les caprins (Bishop & Morris, 2007). Ces races qui ont évolué dans un milieu favorable aux parasites gastro-intestinaux ont subi une forte pression de sélection, ce qui leur confère aujourd'hui une plus grande résistance. Une première approche pour bénéficier de cette variabilité serait d'utiliser les races les plus résistantes. Cependant, elles sont généralement moins performantes en termes de production. Une autre possibilité serait de réaliser des croisements entre individus de races résistantes et individus de races plus productives mais la résistance de ces croisements n'est pas bien décrite. De plus, le coût de cette stratégie est non négligeable puisqu'il faudrait maintenir plusieurs noyaux en race pure (De la Chevrotière, 2011).

Une autre solution consiste à tirer profit de la variabilité de la résistance entre individus au sein d'une même race. Il faut pour cela qu'une part de cette variabilité soit sous contrôle génétique. On la mesure

par l'héritabilité ( $h^2$ ) qui correspond à la part de variance génétique dans la variance totale du phénotype. Celle-ci fait l'objet d'un large consensus dans la littérature avec des valeurs comprises entre 0,2 et 0,4 quelles que soient la race étudiée et les conditions d'infestation (Safari and Fogarty, 2003). Ces valeurs d'héritabilité laissent penser que la sélection génétique représente une stratégie prometteuse pour le contrôle des SGI.

Son efficacité a d'ailleurs été démontrée par la création de lignées divergentes sélectionnées sur la base de mesures d'OPG (Morris et al., 2000 ; Woolaston et al., 1990). Ces lignées représentent un formidable outil pour évaluer l'efficacité de la sélection en appliquant une forte pression de sélection sur les individus. Elles permettent également d'étudier les conséquences que la sélection pour la résistance aux SGI aura sur les caractères de production. Enfin, elles peuvent être utilisées pour évaluer les capacités d'adaptation des strongles gastro-intestinaux à des hôtes génétiquement plus résistants.

#### **2.3.4.2. Déterminisme génétique de la résistance au parasitisme**

La détection de régions chromosomiques ayant un effet significatif sur un caractère donné, appelées Quantitative Trait Loci (QTL), a fait l'objet de nombreuses publications. Les régions chromosomiques impliquées dans le déterminisme génétique de nombreux caractères d'intérêt ont été cartographiées, en particulier les caractères ayant une forte importance économique et les caractères coûteux et difficiles à mesurer (Dominik, 2004).

Dans le cas de la résistance aux strongles gastro-intestinaux, de nombreuses régions chromosomiques réparties sur l'ensemble du génome ont été identifiées (Tableau 5). Elles sont propres à chaque race et peuvent également varier selon les conditions d'infestation.

La diversité des régions identifiées conduit à penser que le déterminisme génétique de la résistance aux strongles gastro-intestinaux est polygénique. Le progrès génétique que l'on peut espérer dans le cadre de la sélection sera plus lent que si un gène majeur de résistance avait pu être mis en évidence. Cependant, le risque de contournement par les parasites s'en trouve réduit. En effet, ce déterminisme polygénique laisse penser que plusieurs mécanismes sont impliqués. Il semble peu probable que les strongles puissent s'adapter à l'ensemble de ces mécanismes malgré leur grande capacité d'adaptation (Kemper et al., 2008).

Tableau 5 : Etat des lieux des régions QTL identifiées pour la résistance au parasitisme (d'après Zvinorova et al., 2016).

Markers	Breed	Chromosome	References
Microsatellites	Romney- Coopworth	8, 23	Crawford et al. (2006)
Microsatellites	Scottish Blackface	2, 3, 14 and 20	Davies et al. (2006)
Microsatellites	Soay	1*, 6*, 12*	Beraldi et al. (2007)
Microsatellites	Scottish Blackface	3, 20	Stear et al. (2009)
Microsatellites	Spanish Churra	1, 6, 10, 14	Gutiérrez-Gil et al. (2009)
SNP	Merino		Marshall et al. (2009)
Microsatellites	Romney-Merino Backcross	3*, 21, 22*	Dominik et al. (2010)
Microsatellites	Suffolk and Texel	3, 14	Matika et al. (2011)
Microsatellites, SNP	Romane-Martinik Blackbelly Backcross	5, 12, 13, 21	Salle et al. (2012)
Microsatellites	Red Masaai, Dorper	2, 26	Marshall et al. (2013)
SNP	Soay	1, 9*	Brown et al. (2013)
SNP	Scottish Blackface	6, 14	Riggio et al. (2013)
SNP	Scottish Blackface, Sarda-Lacaune Backcross, Martinik Blackbelly-Romane Backcross	4*, 6, 14, 19*, 20*	Riggio et al. (2014a)
SNP	Red Maasai-Dorper Backcross	6, 7	Benavides et al. (2015)

### 2.3.4.3. Corrélations génétiques entre la résistance aux strongles gastro-intestinaux et les caractères de production et de reproduction

Un grand nombre d'études ont eu pour objectif d'estimer les corrélations génétiques entre les caractères de production et les caractères de résistance aux strongles gastro-intestinaux. Cependant aucun consensus n'a pu être trouvé. Ceci peut s'expliquer par la diversité des races étudiées qui ont des potentiels génétiques différents en termes de résistance et de résilience, par les systèmes d'élevage ou encore par la diversité des méthodes d'analyse. De plus, on peut noter qu'une part importante de ces études a été menée en conditions d'infestation naturelle. La variabilité des impacts sur la production peut donc également s'expliquer par différents niveaux de contamination des pâtures et donc d'infestation des animaux (Pollot and Greef, 2004), la durée de la période entre le début de l'infestation et la mesure (Doeschl-Wilson et al., 2008), les espèces de parasites présentes au pâturage qui peuvent être plus ou moins pathogènes.

Les corrélations génétiques entre les caractères de production et le nombre d'œufs dans les fèces (OPG), utilisé comme caractère de résistance aux SGI, ont principalement été estimées chez les races allaitantes et les races productrices de laine. Chez les races laitières, l'estimation de ces corrélations a fait l'objet de peu de publications. On peut tout de même citer l'étude de Heckendorn et al (2017) en caprin en conditions d'infestation naturelle qui rapporte une corrélation défavorable de 0,49 entre les OPG et la quantité de lait. On peut également citer Sechi et al. (2009) qui ont estimé une corrélation génétique favorable de 0,21 entre les OPG et le comptage de cellules somatiques.

Le Tableau 6 présente un aperçu des estimations des corrélations génétiques estimées entre les caractères mesurant la résistance aux strongles gastro-intestinaux et les caractères de production et de reproduction.

*Tableau 6 : Corrélations génétiques entre caractères de résistance aux strongles gastro-intestinaux et caractères de production et de reproduction.*

Production	Caractère	Corrélation génétique	Race	Référence
Laine	Poids de laine (12 mois)	-0,15 ± 0,18	Romney	Bisset et al., 1992
	Poids de laine (10 mois)	0,21 ± 0,11	Merinos	Eady et al., 1998
	Diamètre de fibre (10 mois)	-0,09 ± 0,09	Merinos	Eady et al., 1998
	Diamètre de fibre (21 mois)	0,04 ± 0,12	Merinos	Eady et al., 1998
Croissance	Poids au sevrage	-0,05 ± 0,22	Romney	Bisset et al., 1992
	Poids (6mois)	-0,29 ± 0,22	Romney	Bisset et al., 1992
	Poids (5 mois)	-0,63 ± 0,32	Scottish blackface	Bishop et al., 1996
Lait	Quantité de lait	0,49	Caprins : Alpine et Saanen	Heckendorn et al., 2017
	Cellules somatiques	0,21 ± 0,16	Sarde × Lacaune	Sechi et al., 2009

## **2.4. Vers une gestion intégrée des strongles gastro-intestinaux en ferme**

Le contrôle des strongles gastro-intestinaux chez les petits ruminants élevés au pâturage par l'unique levier des traitements anthelminthiques a atteint ses limites. Une gestion durable des SGI passe par la mise en œuvre d'une combinaison de plusieurs stratégies complémentaires (Larsen, 2000). Cette gestion intégrée ne doit pas avoir pour but de totalement éliminer les SGI mais plutôt de maintenir la population de SGI en deçà du seuil où ils causent des dommages chez leurs hôtes. Un des objectifs est d'éviter d'exercer une trop grande pression de sélection sur une stratégie particulière afin de limiter les risques de contournement. Cependant plusieurs questions demeurent quant à leur mise en œuvre en élevage.

### **2.4.1. Choix des stratégies les plus adaptées**

Les stratégies qui conviennent pour un élevage donné ne permettront pas une bonne gestion des SGI dans tous les élevages. Des travaux de recherche doivent encore être menés afin de déterminer quelles sont les stratégies à adopter selon la pression parasitaire au sein de l'élevage, les pratiques en termes de gestion des pâtures et de gestion du troupeau, les conditions climatiques de la région dans laquelle se trouve l'élevage, etc... Une autre question importante porte sur l'effet que peut avoir la combinaison de différentes stratégies. En effet, elles ont souvent été étudiées indépendamment les unes des autres mais le potentiel effet additif d'une combinaison de stratégies est mal connu. Compte tenu de la diversité des méthodes de contrôle, tester expérimentalement l'efficacité des différentes combinaisons possibles serait difficilement réalisable et très coûteux. Les modèles mathématiques peuvent alors s'avérer très utiles puisqu'ils permettent de représenter un système afin de mieux le comprendre et de prédire des résultats futurs. On peut alors évaluer par simulation un grand nombre de combinaisons à moindre coût et identifier les cas les plus pertinents qui pourront ensuite être validés expérimentalement. Ces approches permettent ainsi de mener des études tout en limitant le recours aux animaux en infestations expérimentales ou naturelles.

### **2.4.2. Faisabilité et acceptabilité par les éleveurs**

La mise en œuvre de ces stratégies représente un changement important pour les éleveurs dans leur gestion du parasitisme. La faisabilité en ferme et l'acceptabilité par les éleveurs des différentes

stratégies présentées précédemment sont des points essentiels pour la mise en place d'une gestion intégrée du parasitisme. Même si leur efficacité a été démontrée expérimentalement, toutes ne sont pas encore applicables en élevage et des travaux sont nécessaires afin de les valider sur le terrain.

Le traitement sélectif s'appuie sur l'utilisation des indicateurs présentés au paragraphe 1.4 qui doivent permettre à l'éleveur de déterminer quels sont les animaux à traiter. Or on s'aperçoit qu'en pratique leur utilisation n'est pas si aisée.

Prenons l'exemple de l'index FAMACHA développé en Afrique du Sud sur des troupeaux ovins parasités par *H. contortus*. Il y a tout d'abord une part de subjectivité dans l'attribution des notes. Une période estimée à environ un an semble nécessaire pour s'approprier pleinement cette méthode (Mahieu et al, 2007). De plus, cet indicateur peut manquer de sensibilité. Même s'il s'est avéré très efficace dans les pays où *H. contortus* est largement majoritaire, son intérêt semble plus limité lorsque les animaux sont parasités par d'autres espèces de nématodes (Van Wyk & Bath, 2002). Une étude menée au Brésil suggère que son utilisation comme seul critère de décision pour un traitement sélectif de l'haemonchose chez les agneaux est insuffisante (Cintra et al., 2018). Enfin, une évaluation fiable nécessite une observation des animaux régulière (toutes les 2 à 3 semaines). Cette méthode peut donc être mise en œuvre dans les pays avec des troupeaux de taille restreinte mais semble difficilement envisageable dans des troupeaux de grande taille avec peu de main d'œuvre (Besier, 2012).

D'un point de vue économique, le bénéfice de ces approches n'est pas clair. Pour les élevages ovins, le montant des économies liées à une moindre utilisation des traitements anthelminthiques en mettant en place le traitement ciblé a été évalué à £660 (soit 790€) par an et par élevage au Royaume-Uni (Kenyon & Jackson, 2012). Cependant, la mise en œuvre d'un traitement sélectif suppose que l'on réalise un diagnostic et engendre donc une charge de travail supplémentaire pour l'éleveur s'il se base sur les indicateurs décrits au paragraphe 1.4 ou bien des frais si des coproscopies sont réalisées.

L'accompagnement des éleveurs dans l'utilisation ces nouvelles approches est un facteur important. Les résultats de l'enquête menée par Cabaret et al. (2009) auprès d'éleveurs d'ovins allaitants soulignent l'importance du rôle des conseillers dans l'acceptabilité par les éleveurs de nouvelles pratiques. Il peut aussi être envisagé de développer des outils d'aide à la décision fiables et faciles d'utilisation pour guider les éleveurs ou leurs conseillers (van Wyk et al., 2006 ; Van Wyk and Reynecke, 2011). Ces outils pourraient prendre en compte des données météorologiques ainsi que des données sur la gestion du troupeau et des pâtures pour évaluer le plus précisément possible la pression parasitaire et déterminer le moment le plus opportun pour administrer un traitement.

D'importants efforts de recherche ont été réalisés ces dernières années afin d'identifier de nouvelles méthodes de contrôle des strongles gastro-intestinaux. Une gestion durable des strongles gastro-intestinaux nécessitera la mise en œuvre d'une combinaison de différentes méthodes. Ces méthodes s'organisent en trois axes de lutte : éliminer les strongles gastro-intestinaux, tarir les sources de contamination et améliorer la résistance de l'hôte

Cependant nous avons pu voir dans cette partie que certaines de ces stratégies ne sont pas toujours aisément applicables dans les élevages. Dans le cadre de mes travaux de thèse, je me suis intéressée plus particulièrement à la sélection génétique pour la résistance aux SGI qui fait aujourd'hui partie des stratégies les plus prometteuses en France.

### **3. Sélection génétique d'un animal résistant aux nématodes gastro-intestinaux**

Le contrôle des strongles gastro-intestinaux devient un enjeu de plus en plus important pour les éleveurs de la filière ovine. Face aux cas de résistance aux anthelminthiques de plus en plus nombreux, les organismes de sélection ont manifesté leur intérêt d'intégrer la résistance aux SGI dans la sélection.

#### **3.1. L'amélioration génétique**

L'amélioration génétique a pour objectif d'obtenir des individus plus performants pour un ensemble de caractères zootechniques d'intérêt. Elle est réalisée de générations en générations via le choix des reproducteurs parmi les individus ayant le plus fort potentiel génétique pour ces caractères et la gestion des accouplements entre ces individus.

Les programmes de sélection ont pour objectif de créer et de cumuler le progrès génétique pour un ensemble de caractères zootechniques d'intérêt au sein d'une population en sélection et diffuser ce progrès à la population commerciale.

En France, les schémas de sélection ovins reposent sur une organisation collective des éleveurs que l'on qualifie de pyramidale. Ils se composent de deux types d'élevage : les élevages sélectionneurs qui composent le noyau de sélection et créent le progrès génétique et les élevages utilisateurs qui bénéficient du progrès génétique. Ils ont pour objectif de gérer la variabilité génétique au sein des races et d'améliorer les performances des reproducteurs en fonction des objectifs de sélection définis par l'organisme de sélection (OS).

Le fonctionnement des programmes de sélection repose sur (i) la collecte de données en élevage ou en station de contrôle et centre d'insémination, (ii) l'évaluation du potentiel génétique des animaux et (iii) la gestion des populations en sélection (renouvellement de la population et organisation des accouplements). En ovin, le fonctionnement est conditionné par deux contraintes : l'insémination en semence fraîche et une reproduction saisonnée marquée. Un pool de mâles reproducteurs important est donc nécessaire.



## 3.2. **Principe de l'estimation des paramètres génétiques et de l'évaluation**

### 3.2.1. **Présentation du modèle polygénique**

En génétique quantitative, le phénotype désigne l'ensemble des caractères observables sur un individu. Le phénotype d'un animal se décompose de la manière suivante :  $P = G + E$  où  $G$  est l'effet du génotype de l'animal et  $E$  l'effet de l'environnement (ou milieu).

Les effets environnementaux ( $E$ ) se définissent comme tout ce qui peut influencer les performances d'un individu. Ils peuvent correspondre à différents éléments liés à l'animal lui-même (âge, sexe, statut physiologique etc...), aux conditions d'élevage (troupeau, année, alimentation etc...) ou encore à la mesure du phénotype (méthode ou opérateur).

Le génotype  $G$  peut être décomposé en une valeur génétique additive  $A$  de l'animal (somme des effets additifs moyens des gènes contrôlant l'expression du caractère), une valeur de codominance  $D$  (somme des effets d'interaction entre allèles des différents loci impliqués dans l'expression du caractère) et une valeur d'épistasie  $I$  (somme des effets d'interaction entre allèles de loci différents). Dans le cadre de la sélection, on s'intéresse à la valeur génétique additive  $A$  car on suppose que c'est elle qui représente la plus grande part transmise aux descendants.

L'estimation des paramètres génétiques et l'évaluation génétique des animaux reposent généralement sur le modèle infinitésimal défini par Fisher en 1918. On considère alors qu'un caractère quantitatif est déterminé par un très grand nombre de gènes ayant des effets faibles et indépendants. En appliquant le théorème de limite centrale, on peut considérer que la valeur génétique additive suit une distribution normale.

Les performances des individus peuvent être modélisées selon le modèle linéaire mixte (comprenant à la fois des effets fixes, principalement environnementaux, et des effets aléatoires génétiques ou environnementaux) suivant :

$$y = X\beta + Zu + e$$

où  $y$  est le vecteur des performances de l'ensemble des individus,  $\beta$  le vecteur des effets d'environnement considérés dans le modèle,  $u$  le vecteur des valeurs génétiques aléatoires et  $e$  est le vecteur aléatoire des erreurs résiduelles.  $X$  et  $Z$  sont les matrices d'incidence reliant une performance aux effets fixes et aléatoires respectivement. Le vecteur des valeurs génétiques  $u$  suit une loi normale de moyenne nulle et de variance  $A\sigma_u^2$  avec  $A$  la matrice de parenté construite à partir des informations pédigrée. Le vecteur des erreurs résiduelles  $e$  suit une loi normale d'espérance nulle et de variance  $I\sigma_e^2$ .

Les effets environnementaux pris en compte dans le modèle peuvent être définis comme des effets fixes lorsqu'il y a un nombre limité de niveaux ou bien comme des covariables s'ils ont une relation linéaire avec le caractère étudié ou comme des effets aléatoires s'il y en a un très grand nombre sans relation *a priori* avec le caractère étudié.

### 3.2.2. Principe des méthodes d'estimation des paramètres génétiques

La sélection génétique est permise par l'existence d'une variabilité en partie d'origine génétique au sein des populations animales. La variabilité d'un caractère se mesure au travers de la variance phénotypique  $\sigma_p^2$ . En s'appuyant sur le modèle décrit dans la partie 3.2.1., on peut décomposer la variance phénotypique  $\sigma_p^2$  en ses composantes génétiques et environnementales notées  $\sigma_a^2$  et  $\sigma_e^2$  respectivement. On a alors  $\sigma_p^2 = \sigma_a^2 + \sigma_e^2$ , la covariance entre les composantes génétique et environnementale étant supposée nulle.

L'estimation de ces composantes permet de calculer l'héritabilité d'un caractère et les corrélations qui existent entre ce caractère et les autres caractères d'intérêt.

L'héritabilité représente la part de la variance phénotypique qui est d'origine génétique additive. Elle est spécifique du caractère, de la population dans laquelle elle est estimée et du milieu.

On la calcule comme suit :

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_p^2}.$$

L'héritabilité est comprise entre 0 et 1. Plus elle est élevée, plus la sélection pour le caractère sera efficace.

Le coefficient de corrélation génétique entre deux caractères permet d'estimer le lien entre les valeurs génétiques additives des individus pour ces deux caractères.

Il est compris entre -1 et 1 et se calcule de la manière suivante :

$$r_a = \frac{cov(A_1, A_2)}{\sigma_{A_1} \times \sigma_{A_2}}$$

Une corrélation positive signifie qu'une partie des gènes déterminant le caractère 1 sont aussi à l'origine du déterminisme génétique du caractère 2. Une amélioration génétique sur l'un des deux caractères sera associée à une amélioration sur l'autre caractère également. A l'inverse, en cas de

corrélation négative, l'amélioration génétique sur l'un des caractères s'accompagnera d'une détérioration de l'autre caractère.

L'estimation des paramètres génétiques repose sur le même type de modèle linéaire que celui présenté dans la partie 3.2.1. La méthode d'estimation des composantes de la variance classiquement utilisée est la méthode REML (Restricted Maximum Likelihood). Cette méthode permet de prendre en compte la perte d'information liée à l'estimation simultanée des effets fixes ainsi que les effets de la sélection et des accouplements non aléatoires (Ducrocq, 1992).

L'estimation de ces paramètres génétiques est une étape préalable indispensable à toute évaluation. En effet, la prédiction des valeurs génétiques des animaux nécessite de connaître les variances et covariances des différents effets aléatoires du modèle. La valeur de l'héritabilité d'un caractère indique s'il est possible de sélectionner pour ce caractère. Les corrélations génétiques permettent quant à elles de connaître les liens génétiques entre le caractère à sélectionner et les autres caractères d'intérêt, notamment ceux déjà inclus dans l'index de sélection.

### **3.2.3. Principe des méthodes de détection des QTL**

En réalité, l'expression de certains caractères n'est déterminée que par un petit nombre de gènes ayant un effet important. Il peut alors être intéressant de les identifier.

Les puces à ADN, développées depuis le début des années 2000, permettent de génotyper finement les individus d'une population. On peut, grâce à ces puces, savoir quels allèles sont présents en certaines positions du génome pour lesquelles on dispose de marqueurs sur la puce. Les marqueurs utilisés aujourd'hui sont les Single Nucleotide Polymorphisms (SNP). Ce sont des marqueurs généralement bialléliques caractérisés par le changement d'une seule base. Ils sont très nombreux, répartis sur l'ensemble du génome et peu coûteux à typer. La détection des régions chromosomiques responsables de la variation des caractères quantitatifs, appelées Quantitative Trait Loci (QTL), est basée sur l'existence d'un déséquilibre de liaison entre un SNP et un QTL putatif à proximité.

Le déséquilibre de liaison désigne l'association non aléatoire d'allèles à des loci différents. Au cours de la méiose, chaque parent transmet un brin de chacun de ses chromosomes à ses descendants. Des recombinaisons (coupure d'un brin de chromosome remplacé en partie par l'autre brin) peuvent

cependant se produire de façon aléatoire. Les chances qu'une recombinaison intervienne entre deux loci sont d'autant plus faibles que ces loci sont proches. Ainsi, deux loci proches sur un même chromosome ont une forte probabilité d'être transmis ensemble alors que deux loci distants ou présents sur deux chromosomes différents seront transmis indépendamment l'un de l'autre. Certaines associations d'allèles sont donc plus probables que d'autres dans une population. Si l'on prend l'exemple de deux SNP notés A et B, chacun ayant deux allèles (A1, A2 et B1, B2), quatre combinaisons appelées haplotypes sont possibles : A1B1, A1B2, A2B1, A2B2. Si chaque haplotype est équiprobable alors il y a indépendance entre les marqueurs. A l'inverse, si certains de ces haplotypes sont plus fréquents que les autres, alors il existe une association préférentielle entre ces marqueurs. On dit alors qu'ils sont en déséquilibre de liaison.

On s'appuie à nouveau sur le modèle linéaire mixte présenté dans la partie 3.2.1. auquel s'ajoutent les effets des marqueurs (Zhang et al., 2010) :

$$\mathbf{y} = \mathbf{W}\mathbf{v} + \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{e}$$

où  $\mathbf{y}$  est le vecteur des performances de l'ensemble des individus,  $\mathbf{v}$  le vecteur des effets des marqueurs,  $\boldsymbol{\beta}$  le vecteur des effets d'environnement,  $\mathbf{u}$  le vecteur des valeurs génétiques aléatoires et  $\mathbf{e}$  est le vecteur aléatoire des erreurs résiduelles.  $\mathbf{W}$  et  $\mathbf{X}$  sont les matrices d'incidence reliant une performance aux effets fixes SNP et environnementaux respectivement.  $\mathbf{Z}$  est la matrice d'incidence reliant une performance aux effets aléatoires.

La matrice de parenté utilisée pour ces analyses peut être construite à partir des informations pédigrée ou bien en calculant la proximité entre les animaux à partir de leurs génotypes.

Plusieurs méthodes de détection de QTL existent mais elles partagent un même principe général : on identifie les régions du génome ayant un effet significatif sur le caractère d'intérêt par une étude statistique. On regroupe les individus d'une population en fonction de l'allèle qu'ils portent au marqueur. Puis on détermine s'il existe une différence significative entre les moyennes phénotypiques de chaque groupe à l'aide d'un test statistique (Georges, 2007).

La détection de QTL peut être réalisée intra famille, on parle alors d'analyse de liaison, ou bien à l'échelle de la population et on parle alors d'analyse d'association. Seule l'analyse d'association a été présentée dans cette partie car l'analyse de liaison n'est quasiment plus utilisée chez les petits ruminants depuis l'arrivée des puces SNP.

### 3.2.4. Principe de l'évaluation génétique

Lorsqu'on réalise une évaluation génétique, on cherche à prédire la valeur génétique des individus d'une population via un modèle statistique à partir de trois types d'information : les performances des individus (phénotypes), la description de l'environnement et le pédigrée qui décrit les liens de parenté entre les individus auxquels s'ajoutent les paramètres génétiques préalablement estimés.

Les données phénotypiques utilisées pour l'évaluation génétique peuvent être mesurées sur l'individu lui-même et/ou sur des individus apparentés proches. Plus on possède de mesures pour un individu donné, plus la prédiction de sa valeur génétique sera précise.

La méthode statistique de référence pour les évaluations génétiques, développée par Henderson (1963, 1973), est le BLUP (Best Linear Unbiased Predictor) qui peut se traduire par la « meilleure prédiction linéaire non biaisée ». Elle permet d'estimer des solutions pour les effets génétiques et environnementaux à l'aide d'un modèle linéaire, non biaisées (dont l'espérance est égale à l'espérance de la valeur vraie) et qui soient les meilleures possibles (le carré des erreurs d'estimation est minimisé).

Le BLUP repose sur un certain nombre d'hypothèses : les caractères étudiés sont quantitatifs, dépendent d'une multitude de gènes ayant chacun de petits effets, ces gènes sont transmis d'une génération à l'autre, les liens de parenté entre les individus sont connus et les erreurs résiduelles suivent une loi normale. Il suppose également que les variances et covariances génétiques et résiduelles soient connues (Henderson, 1984).

Les performances des individus peuvent être modélisées selon le modèle linéaire mixte (comprenant à la fois des effets fixes, principalement environnementaux, et des effets aléatoires génétiques ou environnementaux) suivant :

$$y = X\beta + Zu + e$$

où  $y$  est le vecteur des performances de l'ensemble des individus,  $\beta$  le vecteur des effets d'environnement considérés dans le modèle,  $u$  le vecteur des valeurs génétiques aléatoires et  $e$  est le vecteur aléatoire des erreurs résiduelles.  $X$  et  $Z$  les matrices d'incidence reliant une performance aux effets fixes et aléatoires respectivement. Le vecteur des valeurs génétiques  $u$  suit une loi normale de moyenne nulle et de variance  $A\sigma_u^2$  avec  $A$  la matrice de parenté construite à partir des informations pédigrée. Le vecteur des erreurs résiduelles  $e$  suit une loi normale d'espérance nulle et de variance  $I\sigma_e^2$ .

Henderson et al. (1959) ont montré que les estimations des effets du modèle peuvent être obtenues par résolution du système d’équations suivant :

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + \frac{\sigma_e^2}{\sigma_u^2} A^{-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta \\ u \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix}$$

où  $A^{-1}$  est l’inverse de la matrice de parenté,  $\sigma_u^2$  la variance génétique et  $\sigma_e^2$  la variance résiduelle.

### 3.2.5. Principe de l’évaluation génomique

L’évaluation génomique consiste à prédire la valeur génétique des individus à partir de SNP répartis sur l’ensemble du génome (généralement plusieurs dizaines de milliers). Les individus sont génotypés à l’aide des puces décrites au paragraphe 3.2.3. On sait donc quels allèles sont portés par un individu en ces marqueurs. On peut ensuite en déduire grâce au déséquilibre de liaison si cet individu est porteur d’un allèle favorable aux QTL.

Préalablement à la mise en place d’une sélection génomique, la constitution d’une population de référence est une étape indispensable. Cette population rassemble des individus pour lesquels on dispose des phénotypes et des génotypes ce qui permet d’estimer la contribution apparente de chaque allèle de chaque SNP de la puce (Robert-Granié et al., 2011). La valeur génétique d’un individu sera estimée en sommant la valeur des allèles qu’il porte. Il est ainsi possible de prédire la valeur génétique d’individus pour lesquels on ne dispose pas de phénotype.

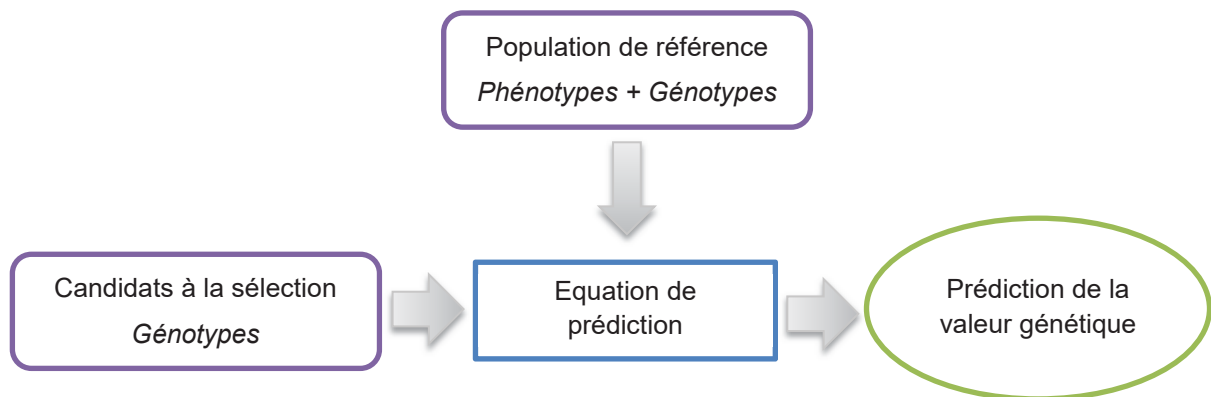


Figure 4 : Principe de l’évaluation génomique

Le modèle utilisé est le suivant :

$$y = X\beta + Mg + e$$

où  $y$ ,  $X$ ,  $\beta$  et  $e$  sont définis comme dans le modèle d'évaluation génétique,  $M$  est la matrice contenant une fonction du nombre d'allèles au marqueur et  $g$  est le vecteur aléatoire des effets des SNP.

La valeur génétique d'un individu  $i$  est alors estimée en sommant les effets des allèles qu'il porte aux marqueurs :  $u_i = m_i g$  où  $m_i$  est un vecteur contenant le génotype de l'individu  $i$  pour tous les marqueurs et  $g$  est un vecteur contenant l'ensemble des effets estimés pour tous les marqueurs.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour réaliser une évaluation génomique.

Le GBLUP (Genomic Best Linear Unbiased Prediction) repose sur les mêmes principes que le BLUP décrit au paragraphe 3.2.4. L'information génomique peut être utilisée de deux façons : (i) en utilisant une matrice de parenté « génomique » dans laquelle les coefficients de parenté entre animaux sont calculés à partir de la proportion d'allèles qu'ils ont en commun à la place de la matrice de parenté basée sur le pédigrée ou (ii) en sommant les effets des marqueurs qui sont alors considérés comme des effets aléatoires (VanRaden, 2008). Cette méthode est bien adaptée lorsqu'un grand nombre de gènes sont impliqués dans le déterminisme du caractère et que les effets des marqueurs sont faibles (Robert-Granié et al., 2011).

L'évaluation génomique peut également être réalisée en utilisant des méthodes Bayésiennes. Plusieurs méthodes reposant sur différentes hypothèses concernant la distribution des effets des SNP ont été décrites. Ces méthodes supposent que la distribution a priori des effets des SNP ne suit pas une loi normale (VanRaden, 2008) Elles permettent de prendre en compte le fait que certains SNP peuvent avoir des effets importants. Elles peuvent donc être appliquées pour les caractères pour lesquels il existe un ou plusieurs gène(s) majeur(s) (VanRaden, 2008).

Les évaluations génomiques réalisées avec le GBLUP ou les méthodes Bayésiennes nécessitent deux étapes : une évaluation polygénique qui permet d'obtenir des données corrigées puis une évaluation génomique réalisée sur ces données corrigées. Cela est à l'origine d'une perte d'information. Une méthode permettant de réaliser l'évaluation polygénique et génomique en une seule étape a été développée : le Single-Step GBLUP (ssGBLUP). Elle consiste à utiliser une matrice de parenté qui combine l'information pédigrée et l'information génomique. En ovin lait, l'évaluation génomique est basée sur cette méthode (Astruc et al., 2016).

### 3.2.6. Apports de la génomique

La sélection génomique a été développée dans les années 2000. En France, elle est utilisée en routine chez les animaux d'élevage depuis 2009 chez les bovins, 2015 en race ovine Lacaune et 2017 pour les races ovines laitières des Pyrénées. Elle permet d'obtenir un progrès génétique plus important et offre donc l'opportunité d'intégrer de nouveaux caractères dans l'objectif de sélection.

La sélection génomique présente de nombreux avantages par rapport à la sélection polygénique classique.

Elle permet d'augmenter l'intensité de sélection et la précision des valeurs génétiques des individus. Cela est particulièrement vrai pour les femelles qui ne pouvaient être évaluées que sur un nombre limité de descendants dans la cadre de la sélection classique. Pour les mâles, elle permet essentiellement d'obtenir une meilleure précision à un âge plus précoce. Ceci s'ajoute à la possibilité de prédire la valeur génétique d'un individu dès la naissance et donc de diminuer l'intervalle de génération. Tout ceci contribue à augmenter le progrès génétique possible sur les caractères sélectionnés. En effet, le progrès génétique ( $\Delta G$ ) se définit comme suit :

$$\Delta G = \frac{i \cdot R \cdot \sigma_a}{T}$$

où  $i$  est l'intensité de sélection,  $R$  la précision,  $\sigma_a$  la variabilité d'origine génétique additive et  $T$  l'intervalle de génération.

En ovin, l'intérêt de la sélection génomique est moins évident que chez les bovins. La réduction de l'intervalle de génération est bien moindre qu'en bovin car il est déjà relativement faible en sélection classique. En effet, un bélier candidat à la sélection n'est mis en attente qu'un an avant d'avoir les performances de ses premières filles. De plus, le coût du génotypage est élevé par rapport à la valeur de l'animal. Enfin, les inséminations artificielles sont réalisées en semence fraîche avec des campagnes très saisonnées. Ces deux contraintes imposent le maintien d'un cheptel important de béliers par les entreprises de sélection. La sélection génomique permet tout de même un surcroît de progrès génétique par rapport à la sélection génétique classique avec un surcoût nul à faible (surcroît de progrès génétique de 16 à 19% en race Lacaune et 20% en race Manech Tête Rousse, Buisson et al., 2014).

Les OS ont fait le choix d'utiliser ce gain de progrès génétique réalisé grâce à la sélection génomique pour inclure de nouveaux caractères dans les objectifs de sélection plutôt que de progresser plus vite sur ceux déjà sélectionnés. Les nouveaux caractères considérés permettront d'améliorer la robustesse des animaux, notamment la résistance aux SGI.



L'amélioration génétique vise à obtenir des individus plus performants de génération en génération pour un ensemble de caractères zootechniques.

Elle est permise par l'existence d'une variabilité en partie d'origine génétique au sein d'une population. Cette variabilité est mesurée au travers de la variance phénotypique et de la variance génétique à partir desquelles sont estimés les paramètres génétiques. L'héritabilité représente la part de variance phénotypique qui est d'origine génétique. La corrélation génétique entre deux caractères permet d'estimer le lien entre les valeurs génétiques additives des individus pour ces deux caractères.

Le passage à la sélection génomique a permis un surcroît de progrès génétique qui pourra être utilisé pour introduire de nouveaux caractères en sélection, dont la résistance aux strongles gastro-intestinaux.

## *Objectifs de la thèse et démarche scientifique*

---

Face au développement de résistances aux anthelminthiques dans les populations de strongles gastro-intestinaux, la sélection génétique pour une meilleure résistance au parasitisme apparaît comme une stratégie prometteuse de contrôle de ces parasites. Dans la filière ovine laitière, la mise en place de la sélection génomique offre la possibilité d'intégrer de nouveaux caractères, dont la résistance aux strongles gastro-intestinaux, dans les objectifs de sélection.

Des programmes de sélection efficaces existent déjà dans plusieurs pays tels que l'Australie, la Nouvelle-Zélande ou encore l'Uruguay où les mâles reproducteurs sont évalués à partir des performances de leurs descendants en ferme en conditions d'infestation naturelle.

En France, un protocole d'infestation expérimentale permettant d'évaluer les mâles candidats à la sélection sur la base de leurs propres phénotypes a été développé. Plusieurs raisons sont à l'origine de la mise au point de cette stratégie. Tout d'abord, la contamination des pâtures peut être plus ou moins importante du fait de conditions climatiques variables avec des saisons plus marquées que dans les pays cités précédemment. En conditions d'infestation naturelle, les niveaux d'infestation peuvent donc être différents d'un animal à l'autre et varier d'une année à l'autre. Se placer en conditions d'infestation expérimentale permet de contrôler la dose de strongles ingérée par chaque individu et ainsi d'éviter de potentiels biais dans l'évaluation. De plus, les mâles candidats à la sélection sont rassemblés et élevés en stations de contrôle, ce qui permet d'évaluer dans un même lieu l'ensemble des béliers candidats à la sélection. Enfin, l'organisation pyramidale des schémas de sélection garantit une diffusion efficace du progrès génétique créé au sein du noyau de sélection à l'ensemble des élevages.

Un protocole de phénotypage original a été développé à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) en collaboration avec les organismes de sélection des races Manech Tête Rousse, Romane et Blanc du Massif Central. Il est aujourd'hui aussi bien utilisé en station de contrôle pour l'évaluation des candidats à la sélection que dans le cadre de travaux de recherche ayant pour but une meilleure compréhension des mécanismes de la résistance.

Il permet de mesurer les phénotypes de résistance (nombre d'œufs excrétés par gramme de fèces) et de résilience (hématocrite) des petits ruminants (Figure 5).

Les animaux sont soumis à deux infestations expérimentales successives avec des larves infestantes L3 de la souche « Humeau » du parasite *Haemonchus contortus*. Cette souche, isolée dans le Sud-Ouest de la France puis maintenue en laboratoire, est sensible à toutes les classes d'anthelminthiques. Les deux infestations, d'une durée d'un mois chacune, sont séparées par une période de repos de 15 jours. Au début et à la fin de chaque infestation, des échantillons sanguins et fécaux sont prélevés afin de mesurer l'hématocrite et le nombre d'œufs excrétés par gramme de fèces (OPG). A la fin de chaque infestation, les animaux sont traités à l'ivermectine avec une dose de 0,2 mg/kg de poids vif.

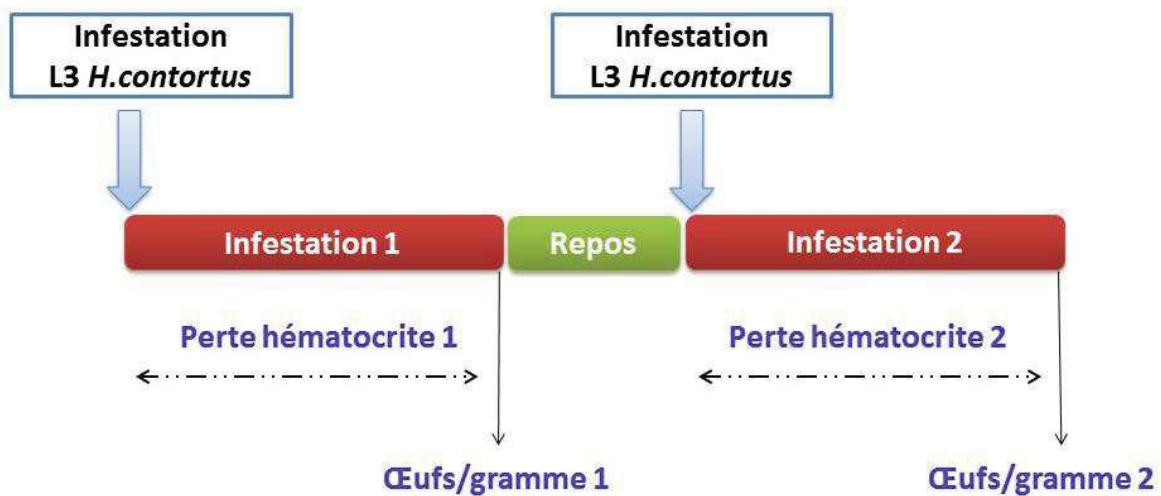


Figure 5 : Description du protocole d'infestation expérimentale utilisé pour phénotyper les animaux.

C'est dans ce contexte que s'inscrivent mes travaux de thèse dont l'objectif est d'évaluer la faisabilité de la sélection génétique des ovins sur la base de la réponse des béliers candidats à la sélection à ce protocole de phénotypage et d'évaluer les impacts que pourraient avoir cette sélection sur les fonctions biologiques d'intérêt pour l'élevage (croissance, reproduction, production de lait ou de viande).

Pour cela, j'ai cherché à répondre à différentes questions qui se posent encore vis-à-vis de la sélection génétique en tant que stratégie de contrôle du parasitisme gastro-intestinal :

- Est-il possible de mettre en œuvre une sélection génétique efficace basée sur des infestations expérimentales pour améliorer la résistance au parasitisme en élevage ?

Cette question a été traitée en deux étapes :

- les caractères de résistance sont-ils héréditaires ?

- existe-t-il des liens antagonistes entre la résistance au parasitisme et les caractères de production laitière ?
  - Peut-on identifier des gènes contrôlant la résistance au parasitisme que l'on pourrait utiliser en sélection ?
  - Sur le long terme, cette sélection pourrait-elle engendrer des compromis entre la fonction immunitaire et les fonctions de production et de reproduction ?

Les deux premières questions ont été traitées avec des données de terrain en collaboration avec l'organisme de sélection de la race Manech Tête Rousse (Centre Département de l'Élevage Ovin, Ordiap, France). Cette race fait partie des trois races laitières du piémont pyrénéen, deuxième bassin de production français de la filière ovin lait. La race Manech Tête Rousse est la race la plus répandue dans cette région où les conditions climatiques sont favorables au développement des strongles gastro-intestinaux.

En élevage, une seule molécule peut être utilisée sans contrainte de délai d'attente pour la consommation de lait du fait des restrictions réglementaires sur l'usage des traitements anthelminthiques (voir partie 1.5.1). De plus, des cas de résistance à plusieurs molécules anthelminthiques ont été mis en évidence (voir partie 1.5.2.2.1). Les éleveurs sont donc face à une impasse thérapeutique. Une sélection efficace pour la résistance au parasitisme permettrait de réduire l'usage des traitements anthelminthiques et ainsi de limiter le développement de résistance aux molécules encore efficaces.

Le dernier point a été étudié grâce à des données expérimentales recueillies lors de protocoles réalisés à l'Unité Expérimentale INRA La Sapinière. Des brebis de race Romane issues d'une sélection divergente sur la résistance à *H. contortus* ont été infestées selon le protocole présenté ci-dessus. Des mesures de poids et des échographies dorsales permettant de mesurer les dépôts de muscle et de gras au niveau dorsal ont également été réalisées afin de réaliser une première évaluation de l'impact de la sélection pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux sur leur croissance.

# ***Etude 1 : Evaluation de la faisabilité de la sélection pour la résistance au parasitisme sur la base de la réponse des mâles candidats à la sélection au protocole d'infestation expérimentale***

*Article publié dans Veterinary Parasitology*

Depuis 2008, l'ENVT et l'organisme de sélection de la race Manech Tête Rousse s'investissent dans la mesure des phénotypes de résistance au parasitisme des mâles candidats à la sélection. Chaque année, le protocole d'infestation expérimentale est appliqué aux béliers qui entrent en station de contrôle.

Cette étude avait pour objectifs d'une part d'estimer la variabilité génétique de la résistance au parasitisme et d'autre part de valider le protocole d'infestation expérimentale dans le cadre du schéma de sélection de la race Manech Tête Rousse.

Les analyses ont été réalisées à partir de deux jeux de données comprenant :

- les mesures d'hématocrite et du nombre d'œufs excrétés dans les fèces (OPG) de 603 béliers infestés expérimentalement en station de contrôle
- les mesures d'hématocrite, du nombre d'œufs excrétés dans les fèces (OPG) et de note d'état corporel (NEC) de 400 brebis suivies en ferme pendant 2 ans.

Ces deux jeux de données étaient en partie liés puisque les 400 brebis en ferme étaient les descendantes d'un groupe de 103 béliers parmi les 603 phénotypés en station de contrôle.

Des héritabilités de 0,35 pour les OPG en fin de deuxième infestation chez les béliers phénotypés en station de contrôle, 0,14 pour les OPG en fin de première infestation chez les béliers et de 0,18 pour les OPG chez les brebis suivies en ferme ont été estimées.

Des corrélations génétiques de 0,71 et de 0,56 ont été estimées entre les OPG des brebis suivies en ferme et les OPG en fin de première infestation et les OPG en fin de deuxième infestation des béliers

phénotypés en station de contrôle. L'efficacité de la sélection a été testée à partir des données collectées chez les 400 brebis suivies en ferme et les 103 béliers dont elles sont issues. Les brebis issues des béliers résistants excrétaient en moyenne deux fois moins d'œufs que celles issues des béliers sensibles. De plus, la part de brebis fortes excrétrices ( $OPG \geq 1000$ ) était trois fois moins importante chez les brebis issues des béliers résistants.

Pour conclure, les héritabilités estimées indiquent que la sélection pour la résistance au parasitisme est possible en Manech Tête Rousse. Cette étude a permis de valider la pertinence du protocole d'infestation expérimentale pour sélectionner pour la résistance au parasitisme dans le cadre du schéma de sélection. En effet, sélectionner les mâles sur la base de leur réponse au protocole d'infestation expérimentale en station de contrôle apparaît comme un moyen efficace d'augmenter la résistance au parasitisme de leurs descendantes au pâturage. Enfin, cette sélection pourrait être réalisée sur la base des OPG en fin de deuxième infestation qui sont plus héritables. Cela permettrait de réduire le coût du phénotypage pour l'organisme de sélection.



## Research paper

## Resistance to gastrointestinal nematodes in dairy sheep: Genetic variability and relevance of artificial infection of nucleus rams to select for resistant ewes on farms



S. Aguerre<sup>a,\*</sup>, P. Jacquet<sup>b</sup>, H. Brodier<sup>b</sup>, J.P. Bournazel<sup>b</sup>, C. Grisez<sup>b</sup>, F. Prévot<sup>b</sup>, L. Michot<sup>c</sup>, F. Fidelle<sup>c</sup>, J.M. Astruc<sup>d</sup>, C.R. Moreno<sup>a</sup>

<sup>a</sup> GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, ENVT, 31320, Castanet-Tolosan, France

<sup>b</sup> UMR INRA-ENVT 1225, Interactions Hôtes-agents Pathogènes, UMT Santé des Petits Ruminants, 31076, Toulouse, France

<sup>c</sup> CDEO, Quartier Ahetzia, 64130, Ordiarp, France

<sup>d</sup> Institut de l'Élevage, 31321, Castanet-Tolosan, France

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Gastrointestinal parasites  
Genetic resistance  
Genetic parameters  
Dairy sheep

## ABSTRACT

Breeding sheep for enhanced resistance to gastrointestinal parasites is a promising strategy to limit the use of anthelmintics due to the now widespread resistance of parasites to these molecules. This paper reports the genetic parameters estimated for parasite resistance and resilience traits in the Blond-faced Manech dairy sheep breed and the putative impacts of the selection for resistance to gastrointestinal nematodes (GIN) on farms. Two datasets were used. First, the rams of the selection scheme were artificially infected twice with L3 *Haemonchus contortus* larvae. Faecal egg counts (FEC) and packed cell volume (PCV) loss were measured 30 days after each infection. Secondly, the FEC, PCV and body condition score (BCS) (1–6 measures per ewe) of naturally infected ewes on farms were measured in the spring, summer and autumn over a two-year period. Genetic parameters were estimated for each dataset independently but also globally based on the pedigree connections between the two datasets. For the experimentally infected sires, the FEC following the second infection was moderately heritable (heritability: 0.35) and strongly correlated with FEC after the first infection (genetic correlation: 0.92). For the naturally infected ewes, FEC was also heritable (0.18). Using the two datasets together, a genetic correlation of 0.56–0.71 was estimated between the FEC values of the experimentally infected rams and naturally infected ewes. Consequently, the genetic variability of parasite resistance is similar whatever the physiological status (males or milking/pregnant ewes) and the infection conditions (experimental infection with one parasite or natural infection with several parasites). In practice, when the sire population is divided into two groups based on their genetic value, the FEC of the ewes born to the 50% most resistant sires is half that of the ewes born to the 50% most susceptible sires. Our study shows the feasibility and efficiency of genetic selection for parasitism resistance based on the sires' FEC records to improve parasite resistance in naturally grazing ewes. For breed improvement, and to increase the selection pressure on parasite resistance, it seems more appropriate to measure FEC values on rams after experimental infection rather than on ewes in natural infection conditions because this limits the number and standardizes the conditions of FEC measurements.

## 1. Introduction

Gastrointestinal nematodes (GIN) are one of the main constraints for grazing sheep. They cause substantial economic losses due to lower production levels, the costs of anthelmintic treatments and the mortality of severely affected sheep (Nieuwhof and Bishop, 2005; Mavrot et al., 2015). GIN control strategies mainly rely on treatment with anthelmintics. In many regions of the world, including France, studies have reported the development of GIN resistance to most

anthelmintic molecules due to their extensive use (Waghorn et al., 2006; Almeida et al., 2010; Torres-Acosta et al., 2012; Geurden et al., 2014; Milhes et al., 2017). Additionally, the possible presence of drug residues in animal products and the negative impact of these molecules on the micro and macro fauna of the soil are of concern (Lumaret et al., 2012).

Therefore, sustainable GIN control is now a priority with schemes that do not only rely on anthelmintics but include complementary strategies such as nutritional supplementation with tannins and/or

\* Corresponding author.

E-mail address: [sophie.aguerre@inra.fr](mailto:sophie.aguerre@inra.fr) (S. Aguerre).

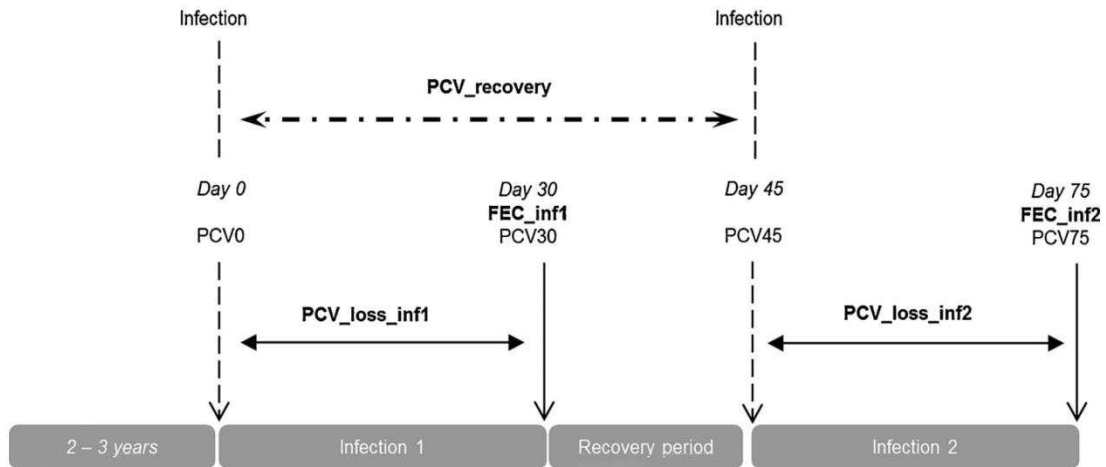


Fig. 1. Experimental design for ram infection.

FEC: Faecal Egg Count

PCV: Packed Cell Volume with PCV\_loss\_inf1 calculated as PCV0-PCV30 and PCV\_loss\_inf2 as PCV45-PCV75

PCV\_recovery was calculated as PCV45-PCV0

The rams were treated with an anthelmintic at the end of the first infection period and were allowed to recovery for 15 days. They were treated again with an anthelmintic at the end of the experiment (day 75).

proteins, pasture management and genetic selection of resistant animals (Hoste, 2005; Terefe et al., 2007). This latter strategy relies on the existence of genetic variation of host resistance to GIN both between and within breeds. The faecal egg count (FEC), the number of parasite eggs per gram of faeces, is the most commonly used indicator to assess this resistance to GIN (Kerboeuf et al., 1997).

In many countries, the selection for parasite resistance is based on FEC measures in natural infection conditions under natural grazing conditions (Bisset et al., 2001). However, the intensity of natural infections in grazing animals depends on climatic conditions and may vary from season to season leading to over- or under-estimation of the genetic parameters of resistance. In France, sheep breeds are selected collectively on selection stations and the strategy is to take advantage of this organization to implement the GIN control selection by phenotyping rams after experimental infections. There are two main advantages. Firstly, a large diffusion of the genetic progress is expected via these rams, which are the future elite males. Secondly, the experimental infections performed in control stations allow to evaluate these rams in homogeneous conditions (standardization of doses of infection, farming conditions, climatic conditions, etc) during the ram evaluation period. Previous studies estimated high genetic correlations between resistances to experimental and natural infection, between infection by different parasite species (*Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*) and between resistance in adult sheep and lambs (Gruner et al., 2004a; 2004b; Bouix et al., 1998). However, little is known about the genetic correlation between the resistance of rams in experimental conditions and the resistance of pregnant or milking ewes in natural conditions of GIN infection.

The aim of this study was to evaluate the impact of the genetic selection of rams for GIN resistance on ewes in farms, i.e. resistance to infection in natural grazing conditions. Initially, we estimated the genetic parameters for resistance and resilience traits in experimentally challenged Blond-faced Manech rams and in natural conditions of infection with productive ewes on farms. The genetic correlations between the FEC values for rams in experimental conditions and their female offspring in natural conditions were also estimated. Finally, we compared the phenotypes of the ewes born to resistant rams with the phenotypes of ewes born to susceptible rams in order to validate the efficiency of our strategy to improve GIN resistance in farm flocks based on selecting rams after experimental challenges.

## 2. Material and methods

### 2.1. Blond-faced Manech selection scheme

The Blond-faced Manech is a dairy sheep breed mainly reared on pastures in the French Basque country in the South West of France. It is a rainy area with 1000–1600 mm of annual rainfall and mild temperatures (5 °C to 25 °C) highly favourable to GIN. The total population of the breed reached 280,000 ewes in 2015 (Arranz, personal communication). The breeding program conducted by the breeders' association (CDEO) is based on a selection nucleus that represents 28% of the whole population. Each year, the best 150 males born to dams of sires and sires of sires are selected in the selection nucleus and gathered at the breeding centre to be progeny-tested using artificial insemination (AI). Up to now, the selection criteria include milk yield (MY), fat (FC) and protein (PC) contents and somatic cell scores (SCS).

As resistance to anthelmintics is spreading in the Pyrenean area (Geurden et al., 2014), the CDEO decided to experiment genetic selection for resistance to GIN in collaboration with the National Veterinary School of Toulouse (ENVT), the National Institute for Agricultural Research (INRA) and the French Livestock Institute (IDELE).

### 2.2. Animal populations

#### 2.2.1. Experimentally infected rams

Between 2008 and 2016, 603 Blond-faced Manech rams from the AI centre, all housed indoors, were artificially infected twice with L3 larvae of the "Humeau" strain of *Haemonchus contortus* isolated in the South West of France and ivermectin susceptible (Fig. 1). Coprological examination was performed to confirm that no eggs were excreted before the artificial infections and initial packed cell volumes (PCV0) were measured. At 30 days after the initial challenge, faecal and blood samples were collected to measure individual faecal egg counts (FEC\_inf1) and packed cell volumes (PCV30). The rams were then treated with ivermectin (0.2 mg/kg of body weight, Oramec<sup>®</sup> Merial). After a 15-day recovery period, the rams were challenged again with *H. contortus* larvae. At that time, the efficacy of anthelmintic treatment was ensured in each ram and individual PCV45 performed. Thirty days after the second challenge, faecal egg counts (FEC\_inf2) and packed cell volumes (PCV75) were measured again. The PCV loss was calculated at



each infection (PCV\_loss\_inf1 and PCV\_loss\_inf2 computed as PCV0-PCV30 and PCV45-PCV75, respectively), as was the rams' capacity to recover after the first infection (PCV\_recovery calculated as PCV45-PCV0) (Fig. 1).

The 603 rams were distributed in seven contemporary groups representing the combination of the year and dose of the challenge. The first four contemporary groups were used to identify the optimal infectious dose for measuring resistance to GIN without unduly affecting the rams' health and their ability to produce semen. In 2008, a contemporary group of 30 rams received two challenges of 5000 larvae and another contemporary group of 20 rams received two challenges of 7500 larvae. In 2009, a contemporary group of 99 rams received an initial challenge of 3500 larvae and a second challenge of 5000 larvae. In 2011, a contemporary group of 53 rams received two challenges of 3000 larvae. The infection design of 2009 was chosen to measure the three last contemporary groups: 132 rams in 2013, 137 rams in 2015 and 132 rams in 2016 because this protocol was found to be the best compromise between observable variability of resistance (high individual variability in the number of eggs excreted) and limited impact of the infection (a maximum decrease of 12% of mean PCV values).

#### 2.2.2. Naturally infected dairy ewes

Four hundred Blond-faced Manech ewes from 7 flocks, offspring of 103 rams among the 603 rams phenotyped for GIN resistance in experimental conditions, were selected to be measured for GIN resistance in natural grazing conditions. On average, 57 ewes were selected per flock. The average number of offspring per ram was 3.9. The ewes were phenotyped at age 2 to 4 years.

The phenotypes of the ewes were recorded three times per year (spring, summer and autumn) in 2015 and 2016. The ewes were exposed to natural GIN infections i.e. mainly *H. contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Cooperia curticei* and *Oesophagostomum venulosum* as determined by morphological identification of adult parasites collected on 190 necropsied ewes in the same area in a previous study (Jacquiet et al., 2004). Faecal and blood samples were collected to measure FEC and PCV. The body condition score (BCS) was assessed by the same operator at each sampling date using a scale from 0 to 5 described by Russel et al. (1969). In the course of the 6 visits to each farm, the ewes were phenotyped 1 to 6 times. Around 1300 measured values were available for each trait. Ewes were treated by farmers one to three times a year using one of these molecules: eprinomectin, ivermectin, oxfendazole, doramectin or moxidectin. The type of treatment and the interval between the date of FEC measurement and the date of treatment prior to FEC measurement were recorded.

The relationship between the dataset of the experimentally infected rams and the dataset of the naturally infected dairy ewes is shown in Fig. 2.

#### 2.3. Sample analysis

The number of eggs per gram of faeces was determined for each sample using a modified MacMaster technique (Raynaud, 1970) with a sensitivity of 15 eggs per gram. Blood samples were collected in EDTA coated tubes and PCV values were determined individually by centrifugation (Biofuge Haemo, Heraeus Instruments) in microhematocrit tubes with a relative centrifugal force of 9500 for 10 min.

#### 2.4. Data analysis

Data distributions and descriptive statistics were obtained using the univariate procedure of SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA). After testing several transformations, a fourth root transformation was applied to correct FEC data for asymmetric distribution. The transformed variables, thereafter referred to as root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 for rams and root\_FEC for ewes, were used for the subsequent analyses.

Linear mixed models were used to identify the environmental, genetic and residual effects affecting FEC, PCV and BCS.

For the 603 experimentally infected rams, data were analysed using a linear mixed model including the contemporary group (7 groups described above) and age (2yr, 3yr, 4yr and older) as fixed effects, a random additive genetic effect  $u_{ij}$  of the animal  $i$  for the trait  $j$  following a normal distribution with mean 0 and variance  $\sigma_u^2$ , and a random residual effect  $\varepsilon_{ij}$  following a normal distribution with mean 0 and variance  $\sigma_e^2$ . The pedigree information used to estimate the genetic values and genetic variances and covariances included three-generation pedigrees (2907 animals).

For the 400 naturally infected dairy ewes, the flock effect (7 flocks), sampling year (2015 and 2016), sampling season (spring, summer, autumn), age (2yr, 3yr, 4yr), lactation rank (1st lactation, 2nd lactation, 3 or more lactations), litter size before lactation (single or multiple new-born lambs), anthelmintic treatments (eprinomectin, ivermectin, oxfendazole, doramectin or moxidectin) in interaction with the number of days between the date of treatment and the sampling date (less than 70 days, between 70 and 100 days, more than 100 days) were tested. These effects were included in a linear mixed model with repeated measures to analyse the data. The random effects of the model for the ewe  $i$  and the trait  $j$  are the random additive genetic effect  $u_{ij}$  and the residual effect  $\varepsilon_{ij}$  and a permanent environment effect  $pe_i$ . These random effects follow a normal distribution with mean 0 and variance  $\sigma_u^2$ ,  $\sigma_e^2$  and  $\sigma_{pe}^2$  respectively. Then, the total phenotypic variance is a sum of the variances between ewes (due to genetic effect  $\sigma_u^2$  and unknown environmental effects  $\sigma_e^2$ ) and the variance between the measures of a given ewe (due to unknown environmental effects affecting the repeated measures of a given ewe  $\sigma_{pe}^2$ ). The pedigree information used to estimate the genetic parameters included three-generation pedigrees (2054 animals).

The correlations between the FEC values for the 603 experimentally

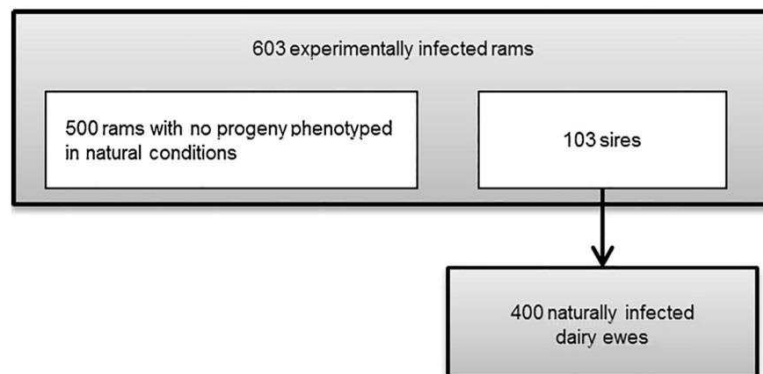


Fig. 2. Relationship between the dataset of the 603 experimentally infected rams and the dataset of the 400 naturally infected dairy ewes.

infected rams and the naturally infected dairy ewes were estimated by combining the two linear mixed models described above. The pedigree file included three generations for a total of 3723 animals.

For both datasets, the fixed and random effects, genetic variances, permanent environment and residual variances ( $\sigma_u^2$ ,  $\sigma_{pe}^2$ ,  $\sigma_e^2$ ) and covariances were estimated by average information restricted maximum likelihood using AIREMLF90 (Misztal, 1999) in multitrait analyses to compute the heritabilities ( $h^2 = \frac{\sigma_u^2}{\sigma_u^2 + \sigma_{pe}^2 + \sigma_e^2}$  for the experimentally infected

rams and  $h^2 = \frac{\sigma_u^2}{\sigma_u^2 + \sigma_{pe}^2 + \sigma_e^2}$  for the naturally infected ewes), and the genetic and phenotypic correlations. The estimates of genetic, permanent environment and residual variances were checked by expectation-maximization REML using REMLF90 software (Misztal, 1999). The standard errors of genetic parameters were estimated using the method of Houle and Meyer (2015). A significant value of genetic parameters was assumed when it was higher than its standard error.

The genetic value for FEC measures of each ram was estimated with the models described above using AIREMLF90. The correlation between the genetic values of the rams estimated using their own FEC in second infection FEC after the second infection (FEC\_inf2) and the same values estimated using the FEC of their offspring was also computed.

Based on these genetic values, two equivalent size groups of rams were created: the R sire group which included the 50% most resistant sires and the S sire group which included the 50% most susceptible sires. FECs were measured in natural grazing conditions for the female offspring of each sire group and the values were compared to assess the impact of the selection for GIN resistance in experimental conditions on GIN resistance in natural conditions.

**3. Results**

For the 603 experimentally infected rams, FECs were on average 30% lower after the second infection than after first infection (Table 1). The same trend was noted for the average PCV loss with means of 3.1% and 1.2% respectively after the first and second infections. For the 400 naturally infected ewes, the mean FEC was lower than the mean FEC of the experimentally infected rams (Table 1).

Moreover, after the fourth-root transformation of the data, the standard deviation of transformed FEC was 20–35% higher for the naturally infected ewes than for the experimentally infected rams.

For the experimentally infected rams, the contemporary group effect was significant for the five recorded traits, reflecting the effect of the infectious doses and breeding environment conditions. The PCV loss after the second infection was also significantly impacted by the age of the rams (Supplementary data – Table 6).

For the naturally infected ewes (Table 2), a peak of egg excretion was observed in the autumn (789 eggs per gram) in comparison with the spring and summer FEC measurements (61 and 39 eggs per gram, respectively). The oldest ewes aged 4 years (92 eggs per gram) excreted fewer eggs than the younger ewes aged 2 years and 3 years (256 and 150 eggs per gram, respectively). The duration since the last anthelmintic treatment had a significant impact on FEC since the values for ewes treated with eprinomectin within the last 70 days were 14 times lower than those of non-treated ewes. The effect of eprinomectin treatment on the number of eggs excreted lasted for more than 70 days. However after 70 days post-treatment, the ratio between the FECs of non-treated and treated ewes dropped to 3.

Table 3 shows the heritabilities, and the genetic and phenotypic correlations estimated for the 603 experimentally infected rams. The heritability of FEC was low after the first infection but moderate after the second infection (0.14 and 0.35, respectively). These two traits were highly correlated with a genetic correlation of 0.92. The phenotypic correlations between FEC and PCV losses after the first and second infections were significant and moderate (0.25 and 0.27, respectively). The genetic correlation between the PCV loss and FEC was high after the first infection (0.86) but not significantly different from zero after

**Table 1**

Descriptive statistics of experimentally infected rams and naturally infected ewes.

Variable	Number of animals (Number of measures)	Mean	Standard deviation	Minimum	Maximum
<i>For experimentally infected rams</i>					
FEC_inf1	586 (586)	2.46	1,896	0	11,100
FEC_inf2	582 (582)	1.87	1,899	0	14,900
root_FEC_inf1	586 (586)	6.5	1.8	0	10.3
root_FEC_inf2	582 (582)	5.8	2.1	0	11.1
PCV0 (%)	593 (593)	34.2	3.2	15	44
PCV30 (%)	594 (594)	31.2	4.1	19	43
PCV_loss_inf1	591 (591)	3.1	3.6	–8	13
PCV45 (%)	590 (590)	33.2	3.5	22	45
PCV75 (%)	587 (587)	32.0	3.7	20	44
PCV_loss_inf2	578 (578)	1.2	2.9	–8	8
PCV_recovery	578 (578)	–0.9	2.9	–8	9
<i>For naturally infected ewes</i>					
FEC	400 (1307)	673	1,159	0	11,250
root_FEC	400 (1307)	3.6	2.4	0	10.3
BCS	399 (1311)	2.5	0.5	1.3	4
PCV	399 (1306)	31.1	3.4	19	43

FEC\_inf1: faecal egg count at the end of the first infection.

FEC\_inf2: faecal egg count at the end of the second infection.

root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 are the fourth-root transformed values for FEC\_inf1 and FEC\_inf2 respectively.

PCV\_loss\_inf1 is the difference between the PCV at the beginning of the 1st infection (PCV0) and the PCV at the end of the 1st infection (PCV30).

PCV\_loss\_inf2 is the difference between the PCV at the beginning of the 2nd infection (PCV45) and the PCV at the end of the 2nd infection (PCV75).

PCV\_recovery is the difference between the PCV values at the beginning of each infection (PCV45-PCV0).

FEC: values for faecal egg count.

root\_FEC: faecal egg count values after fourth-root transformation.

BCS: body condition score.

PCV: packed cell volume.

the second infection.

Table 4 presents the estimated heritabilities, and phenotypic and genetic correlations for the 400 naturally infected ewes. Heritabilities were moderate for FEC and BCS (0.18 and 0.25). The heritability of PCV was lower (0.12). The estimated genetic correlations between FEC, BCS and PCV were not significantly different from 0. The proportion of variance due to permanent environment effects was low (3% of the total variance of FEC). The heritability and repeatability were not significantly different which demonstrates that the similarities between the measurements for an animal are due to its genetic background rather than its immune history.

The genetic correlations between FEC after the first and second infections (FEC\_inf1 and FEC\_inf2) for the 603 rams and FEC measured in the 400 naturally infected dairy ewes were high and positive (0.71 and 0.56, respectively) (Table 5). The correlation between the sires' genetic values based on their own FEC values after the second infection and the sires' genetic values based on the FEC of the dairy ewes was also estimated and was 0.87 (Supplementary data – Fig. S1).

After dividing the 103 rams with offspring measured for FEC into two groups, 178 ewes out of the 400 naturally infected ewes were born to susceptible sires and 222 were born to resistant sires. The offspring of resistant sires excreted on average half as many parasite eggs as the offspring of susceptible sires (Fig. 3). This reduction of FEC reduction obtained by genetic selection with a selection pressure of 50% was similar to the reduction of FEC obtained 70 days after treatment with eprinomectin. The proportion of high shedders, i.e. ewes excreting more than 1000 eggs per gram after back transformation, was lower in the group of ewes born to resistant sires (4%) in comparison with the group of ewes born to susceptible sires (12%).

**Table 2**  
Significant environmental effects for FEC of naturally infected ewes.

Trait	Environmental effect	Levels	Estimated mean	Estimated mean after backtransformation*	p-value	
root_FEC	Age	2 yr	4.0	256	0.005	
		3 yr	3.5	150		
		4 yr	3.1	92		
	Season	Spring	2.8	61	< 0.001	
		Summer	2.5	39		
		Autumn	5.3	789		
	Year × season	Spring	2015	1.7	8	< 0.0001
			2016	3.8	209	
		Summer	2015	3.0	81	
			2016	2.0	16	
		Autumn	2015	5.9	1212	
			2016	4.5	410	
Molecule × Post-treatment interval	Eprinex	< 70 days	3.1	92	< 0.0001	
		70 - 100 days	4.5	410		
		> 100 days	4.7	488		
	Ivomec	70 - 100 days	3.6	168		
		> 100 days	6.4	1678		
	Oxfenil	70 - 100 days	5.4	850		
	Dectomax	70 - 100 days	2.6	45		
	Cydectine	> 100 days	5.8	1132		
	No treatment		6.0	1296		

\* backtransformation means that the estimated means of FEC was approximated by the estimated mean of root\_FEC to the fourth.

**4. Discussion**

The aim of the present study was to investigate whether genetic selection for GIN resistance was feasible in Blond-faced Manech and could be based on the sires' response to an experimental challenge.

An explanation of the lower FEC mean of ewes compared to rams is that the ewes infected in natural conditions probably ingested fewer infective larvae than the rams infected with experimental doses. Besides, the rams were infected with *H. contortus* only, and the females of this species show high fertility, whereas the ewes were infected with several GIN species including *H. contortus* and other GIN species with a lower fertility (*T. circumcincta* and *Trichostrongylus spp.*).

In the present study, the moderate heritabilities of FEC in experimental conditions and in natural grazing conditions are consistent with previous studies (Sechi et al., 2009; Gutiérrez-Gil et al., 2009, Assenza et al., 2014; Gauly et al., 2002).

Around the world, genetic selection for GIN resistance is generally performed using the faecal egg counts of ewes in natural grazing conditions (Bisset et al., 2001). Such selection strategies require a large number of FEC measurements on ewes to accurately evaluate the rams and can therefore be extremely costly. In France, the future sires of the breed are gathered for progeny-testing in control stations and AI centres. Thus, it seemed interesting to investigate whether the logistical advantages offered by this collective organization could be used to

**Table 4**  
Genetic and phenotypic parameters estimated for naturally infected ewes.

	root_FEC	PCV	BCS
root_FEC	<b>0.18 ± 0.04</b>	-0.12 ± 0.54	0.07 ± 0.35
PCV	-0.09 ± 0.03	<b>0.12 ± 0.08</b>	0.02 ± 1.10
BCS	-0.12 ± 0.03	0.24 ± 0.03	<b>0.25 ± 0.10</b>

Heritabilities are written in bold on the diagonal, genetic correlations are above the diagonal and phenotypic correlations are below the diagonal.

root\_FEC: faecal egg count values after fourth-root transformation.

BCS: body condition score.

PCV: packed cell volume.

evaluate and select for GIN resistance in rams in an experimental setting in order to improve the GIN genetic resistance of the ewes on farms. In indoor breeding conditions, i.e. in a controlled environment, the rams can be evaluated by infecting them with standardized doses of larvae. The massive use of AI (50% of the ewes are inseminated in the selection flocks) enables substantial genetic progress and a rapid and efficient diffusion of the best rams in the selection flocks.

Before adopting this selection strategy, we had to estimate the genetic correlation between the trait of interest (FEC of naturally infected ewes) and our predictor trait (FEC of experimentally infected rams). We estimated high genetic correlations (0.71 and 0.56) between FEC values

**Table 3**  
Genetic and phenotypic parameters estimated for experimentally infected rams.

	root_FEC_inf1	root_FEC_inf2	PCV_loss_inf1	PCV_loss_inf2	PCV_recovery
root_FEC_inf1	<b>0.14 ± 0.04</b>	0.92 ± 0.08	0.86 ± 0.09	0.11 ± 0.34	-0.49 ± 0.54
root_FEC_inf2	0.34 ± 0.04	<b>0.35 ± 0.08</b>	0.66 ± 0.20	0.16 ± 0.35	-0.44 ± 0.39
PCV_loss_inf1	0.25 ± 0.04	0.22 ± 0.04	<b>0.24 ± 0.05</b>	0.07 ± 0.32	-0.79 ± 0.36
PCV_loss_inf2	0.03 ± 0.04	0.27 ± 0.04	0.01 ± 0.04	<b>0.18 ± 0.06</b>	-0.27 ± 0.53
PCV_recovery	-0.07 ± 0.04	-0.09 ± 0.04	-0.59 ± 0.03	0.26 ± 0.04	<b>0.16 ± 0.06</b>

Heritabilities are written in bold on the diagonal, genetic correlations are above the diagonal and phenotypic correlations are below the diagonal.

root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 are the fourth-root transformed values for FEC\_inf1 and FEC\_inf2 respectively.

PCV\_loss\_inf1 is the difference between the PCV at the beginning of the 1st infection (PCV0) and the PCV at the end of the 1st infection (PCV30).

PCV\_loss\_inf2 is the difference between the PCV at the beginning of the 2nd infection (PCV45) and the PCV at the end of the 2nd infection (PCV75).

PCV\_recovery is the difference between the PCV values at the beginning of each infection (PCV45-PCV0).

**Table 5**  
Correlations between the FEC measured in the 603 experimentally infected rams and the FEC measured in the 400 naturally infected ewes.

	root_FEC
root_FEC_inf1	0.71 ± 0.01
root_FEC_inf2	0.56 ± 0.01

root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 are the fourth-root transformed values for FEC measured in the 603 experimentally infected rams after the first and second infections respectively.

root\_FEC: faecal egg count values after fourth-root transformation measured in the 400 naturally infected ewes.

for experimentally infected sires and their adult naturally-infected lactating female offspring. These genetic correlations are quite high and suggest a similar genetic determinism of GIN resistance whatever the physiological stage and GIN species (*H. contortus* in experimental conditions versus multispecies GIN infections in natural conditions).

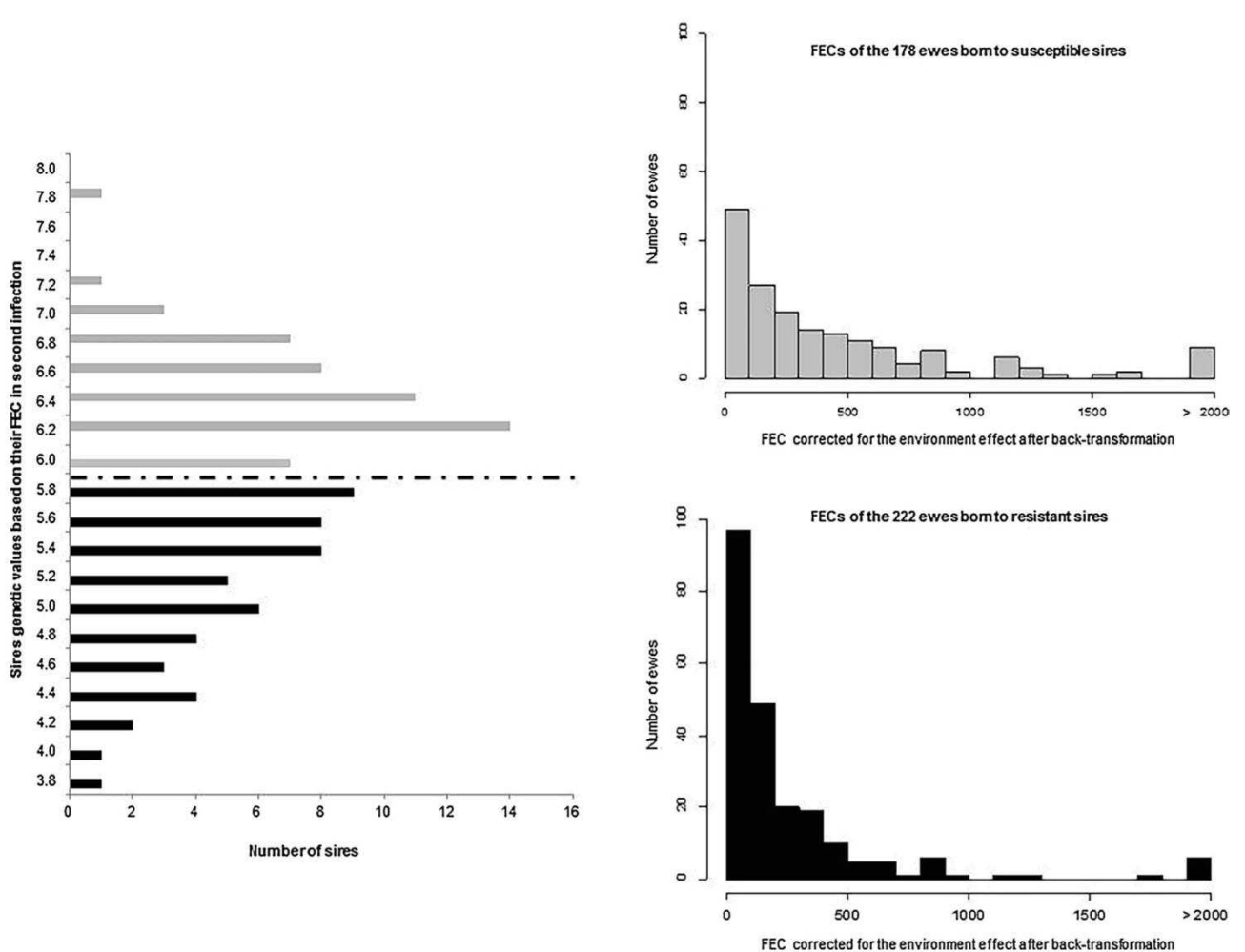
These results are consistent with previous studies. Indeed, Gruner et al. (2004a; 2004b) also estimated high genetic correlations between resistance in natural and experimental conditions and resistance to different parasites. A high genetic correlation (0.58) for FEC measured

in natural grazing conditions was reported by Bouix et al. (1998) between ewes and their 6-7-month-old lambs in a meat sheep breed.

To illustrate the impact of selection for GIN resistance in rams on farm flocks, we showed that the FEC values for ewes born to the 50% most resistant sires were half those for ewes born to the 50% most susceptible sires. This ratio and the correlations mentioned above indicate that selecting rams on the basis of their resistance to experimental infection is an efficient way to increase genetic resistance to GIN parasites in naturally-infected grazing ewes.

Additionally, the actual reduction of the intensity of egg excretion by ewes born to resistant sires could be greater than that observed. The real impact of pasture contamination could not be evaluated in our study because the ewes born to resistant and susceptible rams grazed together on the same pastures. However, we showed that the percentage of high shedders was divided by 3 in the group of ewes born to the 50% most resistant sires compared with the group of ewes born to the 50% most susceptible sires. If the selection for parasite resistance was implemented, the most susceptible ewes would gradually be replaced by more resistant ewes. The offspring of resistant rams would excrete fewer eggs leading to a reduction in pasture contamination and a global protective effect for the flock.

Moreover, in populations where the global level of resistance is insufficient, it could be possible, especially in the case of flocks with proven resistance to anthelmintics, to persistently use only resistant rams to boost GIN control.



**Fig. 3.** Impact of the selection of rams for GIN resistance based on the faecal egg count LSmeans: least squares means. root\_FEC\_inf2: faecal egg count values after fourth-root transformation measured on the 603 experimentally infected rams. The grey bars represent the susceptible sires (on the left histogram) and their female offspring (on the right). The black bars represent the resistant sires (on the left histogram) and their female offspring (on the right).

Eprinomectin was the most commonly used anthelmintic in the flocks of this study (at least once a year in 6 out of the 7 flocks) as it is the only molecule approved for use during lactation without any withdrawal time for milk. However, three other molecules out of the 5 used in the flocks of the study also belong to the macrocyclic lactone family (ivermectin, doramectin and moxidectin). As this family of molecules is used more and more frequently, resistance within GIN populations could develop as previously shown on a meat sheep farm in France (Paraud et al., 2016). Thus, it would be of particular interest to use genetic selection as a complementary control strategy to anthelmintics in order to limit their use. Reducing the number of treatment cycles would decrease the selection pressure on GIN populations and thus limit the development of GIN resistance to anthelmintics. It would also limit the negative impact of these molecules on the fauna of the soil (Lumaret et al., 2012) and help to reduce the number of treatment used by breeders. However, before implementing an effective selection on parasitism resistance, the impact of this selection on production traits has to be evaluated.

The faecal egg counts of the rams after the first and second infections were highly genetically correlated and were more heritable after the second infection than the first infection. These results suggest that the experimental infection design used for this study could be simplified for routine selection use. Individual FECs could be measured once only at the end of the second infection instead of twice as described above.

The resilience of the animals was also evaluated by measuring PCV for the 603 males and both PCV and BCS for the 400 females. For the 603 males, the genetic correlation between FEC and PCV loss was not significantly different from 0 after the second infection. This result could be explained by the relatively low infectious doses used in our experiment compared with previous studies (Sallé et al., 2014, Gruner et al., 2004a). In the present study, the number of larvae administered to rams was sufficient to detect variability in the resistance of the rams but not high enough to have a substantial impact on their health and welfare, and consequently on PCV.

A similar trend was observed in the 400 females for whom the genetic correlations between FEC and PCV and between FEC and BCS were found to be non-significant. Taken together, the correlations estimated in both males and females could indicate that, when infectious pressure is limited as was the case in our study, the resistance (FEC) and the resilience (PCV and BCS) do not have the same genetic determinism.

In the literature, these correlations were reported to be different for growing meat lambs that are likely to have a less efficient immune response. Significant genetic correlations were estimated between the resistance (FEC) and resilience (average daily gain or live weight values) by Assenza et al. (2014) and Bishop et al. (1996). In Blond-faced Manech, resistance and resilience to parasite infections could be selected for independently of each other. However, further studies are needed to assess the genetic relationship between growth and resistance in the lambs of this milk breed.

Genetic selection for GIN resistance in rams is a sustainable solution to improve the resistance of the Blond-faced Manech breed to parasites in natural conditions of GIN infection. The Blond-faced Manech breed switched to genomic selection in 2017. According to the model proposed by Astruc (personal communication), this might result in an increased genetic gain of 15% and thus help to include GIN resistance in the selection objective without losses for the other traits of interest.

A possible limitation of genetic selection is the putative ability of GIN to adapt to more resistant hosts. However, this risk is low for two reasons.

Firstly, many studies have focused on detecting specific genomic regions responsible for observed genetic variation in host resistance and the genetic determinism is clearly polygenic whatever the breed (Dominik, 2005; Bishop, 2012). The risk that parasites will overcome the genetic changes in the host is unlikely when a large number of host genes are involved in the resistance mechanism (Bishop, 2012).

Secondly, the risk of parasite adaptation to the resistant host is higher when selection pressure is high. But with this selection scheme, the selection pressure applied on GIN resistance should have a moderate weight in the global selection objective which already includes milk production traits in the Blond-faced Manech breed. This issue has been addressed by Bishop and Stear (2003) via a modelling approach. They concluded that the risk of adaptation of parasite populations to changes in host genetic resistance is unlikely compared with the risk due to the use of anthelmintics. In addition, Kemper et al. (2008) experimentally tested the ability of *H. contortus* and *T. colubriformis* to adapt to sheep that were genetically resistant or susceptible to parasite infection. After 30 generations, they found no evidence of fitness changes in the parasites only exposed to either resistant sheep or susceptible sheep.

## 5. Conclusion

Our study clearly demonstrates that the selection of rams for parasite resistance after artificial challenges allows to improve the resistance of their female offspring for parasite infections in natural conditions. The last step before including GIN resistance in the selection objective of the Blond-faced Manech breed will be to estimate the genetic correlations between GIN resistance and both the milk production traits and resistance to mastitis which are already included in the selection objective. Another aspect to be studied is the identification of the nematode species that naturally infect the ewes and to compare the prevalence of each species for the ewes born to resistant sires and the ewes born to susceptible sires.

## Acknowledgements

The authors would like to thank CDEO (breeders' association for Blond-faced Manech sheep) and the breeders from French Basque country who participated in this study.

This work was supported by Aquitaine region (PSDR-INGEDICO program); France Génétique Elevage (FENOPAR program); and FranceAgriMer and CASDAR (PARASEL program n°220164581). S. Aguerre receives a grant from Midi-Pyrénées region and from the INRA Animal Health and Animal Genetics departments.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.04.004>.

## References

- Almeida, F.A., Garcia, K.C.O.D., Torgerson, P.R., Amarante, A.F.T., 2010. Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. *Parasitol. Int.* 59, 622–625.
- Assenza, F., Elsen, J.M., Legarra, A., Carré, C., Sallé, G., Robert-Granié, C., Moreno, C.R., 2014. Genetic parameters for growth and faecal worm egg count following *Haemonchus contortus* experimental infestations using pedigree and molecular information. *Genet. Sel. Evol.* 46, 1–13.
- Bishop, S.C., 2012. Possibilities to breed for resistance to nematode parasite infections in small ruminants in tropical production systems. *Animal* 6, 741–747.
- Bishop, S.C., Stear, M.J., 2003. Modeling of host genetics and resistance to infectious diseases: understanding and controlling nematode infections. *Vet. Parasitol.* 115, 147–166.
- Bishop, S., Bairden, K., McKellar, Q., Park, M., Stear, M., 1996. Genetic parameters for faecal egg count following mixed, natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection and relationships with live weight in young lambs. *Anim. Sci.* 63 (3), 423–428.
- Bisset, S.A., Morris, C.A., McEwan, J.C., Vlassof, A., 2001. Breeding sheep in New Zealand that are less reliant on anthelmintics to maintain health and productivity. *N. Z. Vet. J.* 49, 236–246.
- Bouix, J., Krupinski, J., Rzepecki, R., Nowosad, B., Skrzyżala, I., Roborzynski, M., Fudalewicz-Niemczyk, W., Skalska, M., Malczewski, A., Gruner, L., 1998. Genetic resistance to gastrointestinal nematode parasites in Polish long-wool sheep. *Int. J. Parasitol.* 28, 1797–1804.
- Dominik, S., 2005. Quantitative trait loci for internal nematode resistance in sheep: a

- review. *Genet. Sel. Evol.* 37 (Suppl 1), S83–S96.
- Gauly, M., Kraus, M., Vervelde, L., van Leeuwen, M.A.W., Erhardt, G., 2002. Estimating genetic differences in natural resistance in Rhon and Merinoland sheep following experimental *Haemonchus contortus* infection. *Vet. Parasitol.* 106, 55–67.
- 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., Bartram, D., 2014. Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. *Vet. Parasitol.* 201, 59–66.
- Gruner, L., Bouix, J., Brunel, J.C., 2004a. High genetic correlation between resistance to *Haemonchus contortus* and to *Trichostrongylus colubriformis* in INRA 401 sheep. *Vet. Parasitol.* 119, 51–58.
- Gruner, L., Bouix, J., Tien, Vu, Khang, J., Mandonnet, N., Eychenne, F., Cortet, J., Sauvé, C., Limouzin, C., 2004b. A short-term divergent selection for resistance to *Teladorsagia circumcincta* in Romanov sheep using natural or artificial challenge. *Genet. Sel. Evol.* 36, 217–242.
- Gutiérrez-Gil, B., Pérez, J., de la Fuente, L.F., Meana, A., Martínez-Valladares, M., San Primitivo, F., Rojo-Vazquez, F.A., Arranz, J.J., 2009. Genetic parameters for resistance to trichostrongylid infection in dairy sheep. *Animal.* 4, 505–512.
- Houle, D., Meyer, K., 2015. Estimating sampling error of evolutionary statistics based on genetic covariance matrices using maximum likelihood. *J. Evol. Biol.* 28, 1542–1549.
- Hoste, H., 2005. Alternative methods for the sustainable control of gastrointestinal nematodes in small ruminants. *Options Méditerranéennes Série A. Séminaires Méditerranéens*, pp. 431–436.
- Jacquiet, P., Alzieu, J.P., Cabaret, J., Vial-Novella, C., Garrain, C., Minery, S., Arranz, J.M., Prévot, F., Bergeaud, J.P., Grisez, C., Cortet, J., Sauvé, C., Dorchie, P., Gruner, L., 2004. Epidémiologie comparée en Ariège et dans les Pyrénées-Atlantiques des brebis à l'herbe infestées par les helminthes et par *Oestrus ovis*. *Bulletin Des. GTV. Hors-série Parasitologie Des. Ruminants Laitiers* 303–309.
- Kemper, K.E., Elwin, R.L., Bishop, S.C., Goddard, M.E., Woolaston, R.R., 2008. *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* did not adapt to long-term exposure to sheep that were genetically resistant or susceptible to nematode infections. *Int. J. Parasitol.* 39, 607–614.
- Kerboeuf, D., Hubert, J., Hoste, H., 1997. Le diagnostic de laboratoire des strongyloses des ruminants. *Le Point Vétérinaire* 28, 1871–1878.
- Lumaret, J.P., Errouissi, F., Floate, K., Römbke, J., Wardhaugh, K., 2012. A review on the toxicity and non-target effects of macrocyclic lactones in terrestrial and aquatic environments. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 13, 1004–1060.
- Mavrot, F., Hertzberg, H., Torgerson, P., 2015. Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. *Parasit. Vectors* 8, 557.
- Milhes, M., Guillerme, M., Robin, M., Eichstadt, M., Roy, C., Grisez, C., Prévot, F., Liénard, E., Bouhsira, E., Franc, M., Jacquiet, P., 2017. A real-time PCR approach to identify anthelmintic-resistant nematodes in sheep farms. *Parasitol. Res.* 116, 909–920.
- Misztal, L., 1999. **Complex Models, More Data: Simpler Programming?** [http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=bul20\\_5.pdf](http://nce.ads.uga.edu/wiki/lib/exe/fetch.php?media=bul20_5.pdf).
- Nieuwhof, G.J., Bishop, S.C., 2005. Costs of the major endemic diseases of sheep in Great Britain and the potential benefits of reduction in disease impact. *Anim. Sci.* 81, 23–29.
- Paraud, C., Marcotty, T., Lespine, A., Sutra, J.F., Pors, I., Devos, I., 2016. Cross-resistance to moxidectin and ivermectin on a meat sheep farm in France. *Vet. Parasitol.* 226, 88–92.
- Raynaud, J.P., 1970. Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infections parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. *Ann. Parasitol.* 45, 321–342.
- Russel, A., Doney, J., Gunn, R., 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci.* 72, 451–454.
- Sallé, G., Moreno, C.R., Boitard, S., Ruesche, J., Tircazes-Secula, A., Bouvier, F., Aletro, M., Weisbecker, J.L., Prévot, F., Bergeaud, J.P., Trumel, C., Grisez, C., Liénard, E., Jacquiet, P., 2014. Functional investigation of a QTL affecting resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet. Res.* 45, 68.
- Sechi, S., Salaris, S., Scala, A., Rupp, R., Moreno, C.R., Bishop, S.C., Casu, S., 2009. Estimation of (co)variance components of nematode parasites resistance and somatic cell count in dairy sheep. *Ital. J. Anim. Sci.* 8, 156–158.
- Terefe, G., Dorchie, P., Jacquiet, P., 2007. Trends and challenges in the effective and sustainable control of *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Parasite.* 14, 3–14.
- Torres-Acosta, J.F.J., Mendoza-de-Gives, P., Aguilar-Caballero, A.J., Cuéllar-Ordaz, J.A., 2012. Anthelmintic resistance in sheep farms: update of the situation in the American continent. *Vet. Parasitol.* 189, 89–96.
- Waghorn, T.S., Leathwick, D.M., Rhodes, A.P., Lawrence, K.E., Jackson, R., Pomroy, W.E., West, D.M., Moffat, J.R., 2006. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep farms in New Zealand. *NZ Vet. J.* 54, 271–277.

## ***Etude 2 : Estimation des corrélations génétiques entre la résistance au parasitisme mesurée par le nombre d'œufs excrétés dans les fèces et caractères de production laitière***

*Article soumis au journal Genetics Selection Evolution*

Une étape importante pour inclure la résistance au parasitisme dans l'index de sélection est le choix des pondérations pour les caractères en sélection. Ce choix sera fonction des corrélations génétiques entre les caractères de production laitière actuellement inclus dans l'index ISOL et les caractères de résistance aux strongles gastro-intestinaux.

Les paramètres génétiques ont été calculés pour les OPG des béliers en station de contrôle et les caractères de production laitière à savoir la quantité de lait, la quantité de matières grasses, la quantité de matières protéiques, le taux butyreux, le taux protéique et les cellules.

Il s'agit de la première publication des paramètres génétiques des caractères laitiers en Manech Tête Rousse. Des héritabilités modérées comprises entre 0,24 et 0,29 ont été estimées pour la quantité de lait et les quantités de matière. Le TB et le TP ont des héritabilités plus élevées (0,35 et 0,48) et sont négativement corrélés à la quantité de lait.

Des corrélations entre les OPG mesurés en fin de deuxième infestation chez les béliers en station de contrôle et les quantités de lait et de matières comprises entre 0,24 et 0,29 indiquent que les animaux ayant le plus fort potentiel de production sont génétiquement plus sensibles au parasitisme.

Une corrélation défavorable, négative mais relativement faible, a été estimée entre les OPG en fin de deuxième infestation chez les béliers et les cellules somatiques du lait. Cette corrélation indique que les animaux ayant le meilleur potentiel génétique de résistance aux mammites sont plus sensibles au parasitisme.

En conclusion, les corrélations entre les OPG et les caractères de production laitière sont plutôt défavorables mais relativement faibles. Une sélection concomitante pour l'ensemble de ces caractères est donc envisageable en Manech Tête Rousse.

## **Unfavorable genetic correlations between fecal egg count and milk production traits in the French dairy sheep breed Blond-faced Manech**

Sophie Aguerre<sup>1</sup>, Jean-Michel Astruc<sup>2</sup>, Andrés Legarra<sup>1</sup>, Léa Bordes<sup>3</sup>, Françoise Prevot<sup>3</sup>, Christelle Grisez<sup>3</sup>, Corinne Vial Novella<sup>4</sup>, Francis Fidelle<sup>4</sup>, Philippe Jacquet<sup>3</sup>, Carole Romieux-Moreno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, ENVT, 31320, Castanet-Tolosan, France

<sup>2</sup>Institut de l'Élevage, 31321, Castanet-Tolosan, France

<sup>3</sup>UMR INRA-ENVT 1225, Interactions hôtes-agents pathogènes, UMT Santé des Petits Ruminants, 31076, Toulouse, France

<sup>4</sup>CDEO, Quartier Ahetzia, 64130, Ordiarp, France



## **Abstract**

### **Background**

Genetic selection has been proven to be an effective pathway for the sustainable control of gastrointestinal parasitism in sheep. However, little is known on the relationship with production traits in dairy breeds. In this study, the heritabilities and genetic correlations for parasite resistance and milk production traits were estimated in the Blond-Faced Manech breed. Parasite resistance of 957 rams of the selection scheme was measured through fecal egg counts (FEC) at 30 days post infection in experimental conditions. The milk production traits (milk yield MY, fat yield FY, protein yield PY, fat content FC, protein content PC and somatic cell score SCS) dataset included the phenotypes of 140,127 dairy ewes in first lactation collected as part of the official milk recording.

### **Results**

FEC were moderately heritable (0.19 and 0.37 at the end of the first and second infections respectively) and highly correlated (0.93). The genetic parameters we estimated for milk production traits in the Blond face Manech breed were similar to previous estimates in dairy sheep. The heritabilities were moderate for the yields (ranging from 0.24 to 0.29 for MY, FY and PY) and high for FC and PC (0.35 and 0.48 respectively). MY was negatively correlated to FC and PC (-0.39 and -0.45 respectively). We found positive correlations between FEC and MY, FY and PY (0.28, 0.29 and 0.24 respectively with standard errors around 0.10). These slight unfavorable correlations indicate that the animals with high production potential are genetically more susceptible to gastrointestinal parasite infections. We also obtained a significant negative correlation (-0.17) between FEC and SCS suggesting a slight genetic antagonism between resistance to gastrointestinal parasites and mastitis, the other health trait of importance in dairy sheep.

### **Conclusion**

The results indicate a low but antagonistic genetic relationship between resistance to gastrointestinal parasites and milk production traits in the Blond-Faced Manech breed. These results should be useful to the breeders association in their decision making regarding the inclusion of parasite resistance in the selection objective.

**Keywords:** parasite resistance, gastrointestinal nematodes, milk production, genetic parameters, dairy sheep

## Background

Gastrointestinal nematodes (GIN) are one of the major health issues in sheep breeding worldwide. They are responsible for important economic losses both direct due to the cost of mortalities and anthelmintic treatments and indirect due to their impact on production traits. On average, production losses of 15%, 10% and 22% were reported for weight gain, wool production and milk yield respectively [1]. The extensive use of anthelmintic treatments as the only control strategy has been questioned for several years due to the development of resistance to the main molecules in the parasite populations.

In France, resistance to gastrointestinal parasitism is an important issue for the sheep industry, particularly in the Pyrénées-Atlantiques. This area is the second area for dairy sheep breeding in France. Its mild and humid climate is favorable for the development of GIN. Several cases of resistance to benzimidazoles have been identified in this area [2] and more recently, a multiple resistance to ivermectin and benzimidazoles was detected for *Haemonchus contortus* [3]. In addition, only one molecule (eprinomectin) is allowed during lactation with no withdrawal time for milk. Therefore, it is now urgent to implement complementary control strategies to the use of anthelmintics in this area.

The feasibility and efficiency of genetic selection for resistance to GIN using fecal egg count as GIN resistance trait has been demonstrated in the Blond-Faced Manech breed [4]. But before including GIN resistance as a new trait in the breeding objective, we need to better understand the relationship between the production traits currently selected for and GIN resistance trait.

The objective of our study was to estimate the genetic correlations between GIN resistance trait (measured by fecal egg counts (FEC) on rams experimentally infected by *Haemonchus contortus*) and milk production traits measured on ewes including daughters of the rams (milk yield (MY), fat and protein yields (FY, PY), fat and protein contents (FC, PC) and somatic cell score (SCS).

**Material and methods:****Parasite resistance phenotypes:**

Between 2008 and 2018, 951 Blond-Faced Manech rams belonging to the breeding organization Centre Départemental pour l'Élevage Ovin (CDEO) were challenged with two successive experimental infections with *Haemonchus contortus*. The rams were mainly 1 to 3 years old at the time of the protocol. Older rams were also phenotyped as 10% of the rams were 4 to 9 years old. They were parasite-naïve and housed indoors. They were mainly infected with 3,500 and 5,000 infective larvae of the “Humeau” strain of *H. contortus* in first and second infection respectively. Different doses have been used in the first years of phenotyping (see details in [4]). Each infection lasted 30 days and the two infections were separated by a 15-day recovery period. Fecal samples were collected at the end of each infection. The rams were then drenched orally with ivermectine (0.2 mg/kg of body weight, Oramec<sup>®</sup> Merial) to stop the infection. The counting of the eggs in the feces was performed using the modified McMaster technique [5].

**Milk production phenotypes:**

The data for milk production traits were obtained from the official milk records. In the Blond-Faced Manech breed, the milk recording protocol is as follows: milk yield is measured individually 4 to 6 times per lactation and the composition of the milk is measured on samples taken during three of the first four milk tests during the first lactation. ICAR guidelines were followed [6].

Data for six traits of economic importance were analyzed: milk yield (MY), fat (FY) and protein yield (PY), fat (FC) and protein (PC) contents and somatic cell score (SCS). The records of milk recording for the period 2009-2018 were included in the analyses for a total number of 140,127 dairy ewes in first lactation. These years correspond to the period during which the rams phenotypes for parasite resistance had female offspring in first lactation.

We also performed the analyses using the daughter yield deviations (DYD) of the rams [7] from national genetic evaluations for milk production traits. DYD correspond to the average performance of

the female offspring of a ram corrected for the environmental effects and the genetic value of the dams.

### Statistical analyses:

The fecal egg counts were fourth-root transformed in order to normalize data before further analyses. Heritabilities and genetic correlations were estimated for the two FEC measures and the six milk production traits with bivariate analyses.

The model for FEC was:  $y_{ij} = \mu + cg_i + age_j + a_j + e_{ij}$

where  $y_{ij}$  is the trait (root\_FEC\_inf1 or root\_FEC\_inf2),  $\mu$  is the population mean,  $cg_i$  is the contemporary group  $i$  (combination of the year and dose effects, 9 levels),  $age_j$  is the fixed effect of age of the individual  $j$  at the time of sampling (4 levels),  $a_j$  is the additive genetic random effect of the individual  $j$  following a normal distribution with mean 0 and variance  $\sigma_u^2$  and  $e_{ij}$  is the random residual effect.

The milk traits data were fitted to the following models:

$$MY_{ijklm} = \mu + hy_i + age_j + ml_k + i_l + an + e_{ijklm}$$

$$FY_{ijmn} = \mu + hy_i + age_j + c_m + a_n + e_{ijmn}$$

$$PY_{ijmn} = \mu + hy_i + age_j + c_m + a_n + e_{ijmn}$$

$$FC_{ijmn} = \mu + hy_i + age_j + c_m + a_n + e_{ijmn}$$

$$PC_{ijmn} = \mu + hy_i + age_j + c_m + a_n + e_{ijmn}$$

$$SCS_{ijkn} = \mu + hy_i + age_j + ml_k + a_n + e_{ijkn}$$

where  $hy_i$  is the fixed effect of herd×year  $i$  (2229 levels),  $age_j$  is the fixed effect of age at first lambing  $j$  (4 levels),  $ml_k$  is the fixed effect of month at lambing  $k$  (6 levels),  $i_l$  is the fixed effect of interval between lambing and first-test day  $l$  (5 levels),  $c_m$  is the fixed effect of combination of the 3 samplings used to evaluate the composition of the milk (6 levels),  $a_n$  is the additive genetic random effect of the individual  $n$  and  $e_{ijklm}$ ,  $e_{ijmn}$  and  $e_{ijkn}$  are the random residual effect.

The pedigree information on 5 generations was used for the estimation of the genetic parameters and included 217,467 individuals. Among the 951 rams phenotyped for parasite resistance, 729 (77%) had more than 20 female offspring phenotyped for milk production. Among the ewes phenotyped for milk production, 65% were the female offspring of the rams phenotyped for parasite resistance.

The genetic and residual variances were computed by average information restricted maximum likelihood. The analyses were performed with AIREMLF90 [8]. We first estimated the genetic parameters using parasite resistance phenotypes and milk production phenotypes. Then we performed the estimations of the genetic parameters using the parasite resistance phenotypes and the DYD.

### **Results and discussion:**

Basic statistics for the dairy breed Blond-Faced Manech are given in Table 1.

The 957 experimentally infected rams excreted a 20% lower number of eggs upon reinfection than in the first infection when they were naïve toward *H. contortus* (2567 and 2064 eggs per gram at the end of the first infection and second infection respectively). This was also observed in other studies using experimental protocols of infection similar to ours [9, 10]. For the ewes in first lactation, the average milk yield corrected for lactation length and expressed in mature equivalent was 261L. The fat content was 61.61g/L and protein content was 48.88g/L. These values are weak because the sampling was performed in the morning in mid-lactation.

The heritabilities and genetic correlations are reported in Table 2. The results obtained with the DYD were very similar to those obtained with full data (Table S1 and Table S2).

The FEC heritability was moderate at the end of the first infection (0.19) but was higher at the end of the second infection (0.37). These values are consistent with the estimates (0.2 to 0.4) reported in the literature for other breeds [11-14]. In accordance with other studies [14, 15], we found high genetic correlations between FEC measures (0.93).

The heritabilities of MY, FY and PY (0.29, 0.24 and 0.26 respectively) and FC and PC (0.35 and 0.48 respectively) were moderate to high; whereas the heritability of SCS was lower (0.15). The estimates of genetic variances are in Table 3. The yield measures (MY, FY, PY) were highly and positively correlated with genetic correlations ranging from 0.83 to 0.91. On the contrary, the genetic correlations between MY and FC and PC were negative, showing a genetic antagonism between these traits. Finally, a slightly unfavorable genetic correlation was observed between MY and SCS (0.14).

These estimates fall in the range of values classically observed in dairy breeds as reported by Carta et al. [16] in their review. They were consistent with genetic parameters for milk production traits found in the Lacaune breed [17] and in the Sarda breed [18] but not with estimates obtained in Spanish breeds. Lower heritabilities for MY, FY, PY, FC and PC were estimated in Black-Faced Latxa [19]. Negative genetic correlations were found between MY and SCS in Spanish Churra breed [20] as well as in Black-Faced Latxa [21]. The differences observed between French and Spanish breeds might be explained by the different methods of milk recording as discussed by Legarra and Ugarte [19]. Indeed, two different methods described in the ICAR guidelines [6] have been used in Spain and France. The AT method with alternate morning/evening milk recording was used for the Spanish breeds whereas the AC method where milk recording is performed at the same milking at each recording visit was used for the French breeds.

Our protocol of resistance phenotyping includes two experimental infections. The first one is performed on naïve animals. The response observed during this first experimental infection corresponds to the response of lambs during the beginning of their first grazing season. On the other hand, the second infection mimics reinfections in these animals during their successive grazing seasons. Therefore, FEC measured at the end of the second infection probably better reflect the response of lactating ewes to GIN infections during their productive life. This may partly explain the differences obtained in the genetic correlations that we estimated between FEC and milk production traits.

The genetic correlations between FEC at the end of the first infection and the milk production traits were not significant. But we found unfavorable genetic correlations of 0.28, 0.29 and 0.24 between

FEC at the end of the second infection and MY, FY and PY respectively. These results indicate that ewes with a high production potential tend to be genetically more susceptible to GIN infections. These results were in accordance with Heckendorn et al. [22] who also found an unfavorable correlation between FEC measured in natural conditions of infection and milk yield in Saanen and Alpine goats, though their estimation was higher (0.49). However they contrast with the negative genetic correlation found by Morris et al. [23] between MY and FEC in Saanen does. The relationship between production traits and parasite resistance traits has been more extensively studied in meat and wool sheep breeds. However, the estimated genetic correlations reported in the literature were very variable with values ranging from -0.17 and 0.21 between FEC and wool production traits and values between -0.63 and 0.24 between FEC and meat production traits [24]. Several studies investigated the reasons for this lack of consensus. It was shown through a modeling approach that the genetic correlation between body weight and FEC may vary over time, underlying the importance of time of sampling [25]. The infection pressure also seems to have an impact on the estimated genetic parameters. It was shown in natural conditions of infection that meat production traits were poorly correlated with FEC in environments where FEC were low, while this correlation would increase in environment where FEC were higher.

Our dataset comprised FEC measured on experimentally infected rams and milk production performances measured on ewes in first lactation. Our experimental protocol of infection allows us to control precisely the dose of infection and the time of sampling, thus avoiding the above-mentioned biases. It also avoids having a bias in our estimates that could be due to a compromise between production capacity and immune response as it can be the case in studies where both traits are measured on the same animals. However, properly estimating the genetic correlations between FEC and milk production traits with our dataset structure requires quite a large number of data.

We found a negative genetic correlation between FEC at the end of the second infection and PC (-0.2). The interaction between parasite resistance and host nutrition has been largely studied in the literature [26-28]. In particular, protein supplementation has been shown to stimulate the immune response. The

allocation of proteins to milk production resulting in a higher PC could be at the detriment of the immune response.

Along with GIN infections, mastitis is a major health constraint in dairy sheep production and is responsible for an altered quality of milk and a higher flock renewal. In Greece, studies showed that GIN infections might be a predisposal factor to clinical mastitis. Ewes infected by parasites in experimental conditions were more likely to develop clinical mastitis than non-infected ewes [29]. These findings were confirmed in field conditions where a higher prevalence of subclinical mastitis was observed among infected ewes, the prevalence being higher in ewes with high FEC than in ewes with low FEC [30]. In agreement, we estimated a slightly unfavorable genetic correlation (-0.17) between SCS and FEC at the end of the second infection. However, in natural condition of parasite and mastitis infections, Sechi et al. [31] estimated a favorable correlation (0.21) in Sardinian×Lacaune backcross.

The effect of the unfavorable genetic correlation between FEC and MY might yield to a deterioration of resistance to parasitism. Here we will give an order of magnitude. Roughly, the genetic progress is of  $\Delta G=0.25$  standard deviations of the breeding objective (composed of MY and contents as well as SCS since 2017) per year. Assuming that the only selected trait is MY, the correlated response in FEC is  $Cov(FEC, MY) \times Var(MY)^{-1} \times \Delta G_{milk\ yield}$  equal to 0.003. It is important to take these correlations into account in order to avoid further deterioration of resistance to parasitism. As the correlation is not too high, it is possible to select both on dairy traits and resistance to parasitism.

## **Conclusion**

We found unfavorable but low genetic correlations between milk production traits and parasite resistance traits in dairy sheep. Our estimates of genetic correlations will be useful for the breeders association (CDEO) of Blond-faced Manech breed to modify their global breeding objective using new weights for the dairy traits that are already under selection and including FEC.



Table 1: Descriptive statistics of rams phenotyped for parasite resistance and ewes phenotyped for milk production.

Variable	Number of animals	Mean	Standard deviation	Minimum	Maximum
<i>For rams phenotypes for parasite resistance</i>					
FEC_inf1_T0 (eggs/g)	951	0	0	0	0
FEC_inf1 (eggs/g)	944	2567	1886	0	11400
FEC_inf2 (eggs/g)	912	2064	1983	0	14900
root_FEC_inf1	944	6.5	1.9	0	10.3
root_FEC_inf2	912	5.9	2.1	0	11.0
<i>For ewes phenotyped for milk production</i>					
MY (L)	139,496	261	76	29	495
FY (kg)	139,378	15.98	4.81	1.32	30.95
PY (kg)	139,507	12.74	3.80	1.20	24.48
FC (g/L)	139,226	61.61	8.29	35.78	87.71
PC (g/L)	139,376	48.88	4.23	35.90	62.06
LSCS	138,863	8.8	0.2	8.1	9.4

FEC\_inf1: fecal egg count at the end of the first infection

FEC\_inf2: fecal egg count at the end of the second infection

root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 are the fourth-root transformed values for FEC\_inf1 and FEC\_inf2 respectively

MY: milk yield

FY: fat yield

PY: protein yield

FC: fat content

PC: protein content

LSCS: somatic cell score is the somatic cell count after log-transformation

Table 2: Genetic parameters for parasite resistance and milk production

	root_FEC_inf1	root_FEC_inf2	MY	FY	PY	FC	PC	LSCS
root_FEC_inf1	<b>0.19 ± 0.07</b>	0.93 ± 0.25	-0.14 ± 0.24	0.19 ± 0.19	-0.20 ± 0.27	0.57 ± 0.73	0.03 ± 0.18	-0.05 ± 0.20
root_FEC_inf2		<b>0.37 ± 0.09</b>	0.28 ± 0.10	0.29 ± 0.11	0.24 ± 0.10	-0.02 ± 0.09	-0.20 ± 0.10	-0.17 ± 0.11
MY			<b>0.29 ± 0.007</b>	0.83 ± 0.006	0.91 ± 0.003	-0.39 ± 0.02	-0.45 ± 0.01	0.14 ± 0.02
FY				<b>0.24 ± 0.007</b>	0.85 ± 0.005	0.18 ± 0.02	-0.15 ± 0.02	0.21 ± 0.03
PY					<b>0.26 ± 0.007</b>	-0.18 ± 0.02	-0.04 ± 0.02	0.21 ± 0.02
FC						<b>0.35 ± 0.007</b>	0.54 ± 0.01	0.09 ± 0.02
PC							<b>0.48 ± 0.007</b>	0.08 ± 0.02
SCS								<b>0.15 ± 0.006</b>

(1) root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 are the fourth-root transformed values for FEC\_inf1 and

FEC\_inf2 respectively

MY: milk yield

FY: fat yield

PY: protein yield

FC: fat content

PC: protein content

LSCS: somatic cell score

(2) Heritabilities are written in bold on the diagonal and genetic correlations are above the diagonal.

Table 3: Genetic and residual variances for parasite resistance and milk production

	root_FEC _inf1	root_FEC _inf2	MY (L <sup>2</sup> )	FY (kg <sup>2</sup> )	PY (kg <sup>2</sup> )	FC (g <sup>2</sup> /L <sup>2</sup> )	PC (g <sup>2</sup> /L <sup>2</sup> )	LSCS
$\sigma_a^2$	0.50	1.69	964.24	3.20	1.84	18.66	6.15	0.0055
$\sigma_e^2$	2.15	2.87	2312.2	10.18	5.31	34.74	6.63	0.03

root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 are the fourth-root transformed values for FEC\_inf1 and FEC\_inf2 respectively

MY: milk yield

FY: fat yield

PY: protein yield

FC: fat content

PC: protein content

LSCS: somatic cell score is the somatic cell count after log-transformation

Additional file 1: Table S1. Descriptive statistics for the daughter yield deviations of the rams

Variable	Number of rams	Mean	Standard deviation	Minimum	Maximum
DYD_MY	639	286.76	108.95	-46.44	672.50
DYD_FY	639	7.88	7.90	-14.39	33.74
DYD_PY	639	6.12	5.77	-12.69	26.02
DYD_FC	639	0.37	2.34	-5.99	7.50
DYD_PC	639	0.17	1.15	-3.19	4.39
DYD_SCS	639	56.34	283.22	-718.24	1129.71

DYD\_MY: daughter yield deviation for milk yield

DYD\_FY: daughter yield deviation for fat yield

DYD\_PY: daughter yield deviation for protein yield

DYD\_FC: daughter yield deviation for fat content

DYD\_PC: daughter yield deviation for protein content

DYD\_SCS: daughter yield deviation for somatic cell score

Additional file 2: Table S2. Genetic correlations between fecal egg counts and milk production traits

estimated using the fecal egg counts and the DYD of the rams.

	root_FEC_inf1	root_FEC_inf2	DYD_MY	DYD_FY	DYD_PY	DYD_FC	DYD_PC	DYD_SCS
root_FEC_inf1		0.93 ± 0.25	-0.18 ± 0.09	0.07 ± 0.10	-0.28 ± 0.11	0.69 ± 0.67	0.07 ± 0.24	-0.09 ± 0.29
root_FEC_inf2			0.27 ± 0.04	0.22 ± 0.07	0.17 ± 0.09	-0.03 ± 0.09	-0.19 ± 0.10	-0.07 ± 0.09
DYD_MY				0.71 ± 0.02	0.79 ± 0.02	-0.28 ± 0.05	-0.38 ± 0.04	0.03 ± 0.04
DYD_FY					0.87 ± 0.02	0.23 ± 0.04	-0.16 ± 0.04	0.15 ± 0.05
DYD_PY						-0.14 ± 0.05	-0.08 ± 0.04	0.15 ± 0.05
DYD_FC							0.46 ± 0.07	0.20 ± 0.10
DYD_PC								0.21 ± 0.10
DYD_SCS								

root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 are the fourth-root transformed values for FEC\_inf1 and FEC\_inf2 respectively

DYD\_MY: daughter yield deviation for milk yield

DYD\_FY: daughter yield deviation for fat yield

DYD\_PY: daughter yield deviation for protein yield

DYD\_FC: daughter yield deviation for fat content

DYD\_PC: daughter yield deviation for protein content

DYD\_SCS: daughter yield deviation for somatic cell score

## References

1. Mavrot F, Hertzberg H, Torgerson P. Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors*. 2015; 8:557.
2. Geurden T, Hoste H, Jacquet 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, Bartram D. Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. *Vet. Parasitol*. 2014; 201:59-66.
3. Cazajous T, Prevot F, Kerbiriou A, Milhes M, Grisez C, Tropee A, Godart C, Aragon A, Jacquet P. Multiple-resistance to ivermectin and benzimidazole of a *Haemonchus contortus* population in a sheep flock from mainland France, first report. *Veterinary parasitology: Regional Studies and Reports*. 2018;14:103-105.
4. Aguerre S, Jacquet P, Brodier H, Bournazel JP, Grisez C, Prévot F, Michot L, Fidelle F, Astruc JM, Moreno CR. Resistance to gastrointestinal nematodes in dairy sheep: Genetic variability and relevance of artificial infection of nucleus rams to select for resistant ewes on farms. *Vet. Parasitol*. 2018;256:16-23.
5. Raynaud JP. Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. *Ann. Parasitol*. 1970;45:321-342.
6. ICAR guidelines. <https://www.icar.org/index.php/icar-recording-guidelines/>. Accessed 6 May 2019.
7. VanRaden PM, Wiggans GR. Derivation, calculation, and use of national animal model information. *J Dairy Sci*. 1991;74(8):2737-2746.
8. Misztal I. *Complex Models, More Data: Simpler Programming?* 1999.

9. Assenza F, Elsen JM, Legarra A, Carré C, Sallé G, Robert-Granié C, Moreno CR. Genetic parameters for growth and faecal worm egg count following *Haemonchus contortus* experimental infestations using pedigree and molecular information. *Genet Sel Evol.* 2014;46.
10. Sallé G, Jacquiet P, Gruner L, Cortet J, Sauvé C, Prévot F, Grisez C, Bergeaud JP, Schibler L, Tircasez A, François D, Pery C, Bouvier F, Thouly JC, Brunel JC, Legarra A, Elsen JM, Bouix J, Rupp R, Moreno CR. A genome scan for QTL affecting resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. *J Anim Sci.* 2012;90:4690-4705.
11. Bishop SC, Jackson F, Coop RL, Stear MJ. Genetic parameters for resistance to nematode infections in Texel lambs and their utility in breeding programmes. *Anim Sci.* 2004;78:185-194.
12. Gruner L, Bouix J, Vu Tien Khang J, Mandonnet N, Eychenne F, Cortet J, Sauvé C, Limouzin C. A short-term divergent selection for resistance to *Teladorsagia circumcincta* in Romanov sheep using natural or artificial challenge. *Genet Sel Evol.* 2004;36:217-242.
13. Pollot GE, Greeff JC. Genotype  $\times$  environment interactions and genetic parameters for faecal egg count and production traits of Merino sheep. *J Anim Sci.* 2004;82(10):2840-2851.
14. Brown DJ, Fogarty NM. Genetic relationships between internal parasite resistance and production traits in Merino sheep. *Anim Prod Sci.* 2016;57:209-215.
15. Wolf BT, Howells K, Nakielny C, Haresign W, Lewis RM, Davies O, Davies MH. Genetic parameters for strongyle and *Nematodirus* faecal egg counts in lambs and their relationships with performance traits. *Livest Sci.* 2008;113(2-3):209-217.
16. Carta A, Casu S, Salaris S. Invited review: Current state of genetic improvement in dairy sheep. *J Dairy Sci.* 2009;92(12):5814-5833.
17. Barillet F. Genetic improvement for dairy production in sheep and goats. *Small Ruminant Res.* 2007;70:60-75.

18. Sanna SR, Carta A, Casu S. (Co)variance components estimates for milk composition traits in Sarda dairy sheep using a bivariate animal model. *Small Ruminant Res.* 1997;25(1):77-82.
19. Legarra A, Ugarte E. Genetic parameters of milk traits in Latxa dairy sheep. *Anim Sci.* 2001;73:407-412.
20. El-Saied UM, Carriedo JA, De la Fuente LF, San Primitivo F. Genetic parameters of lactation cell counts and milk and protein yields in dairy ewes. *J Dairy Sci.* 1999;82(3):639-644.
21. Legarra A, Ugarte E. Genetic parameters of udder traits, somatic cell score, and milk yield in Latxa sheep. *J Dairy Sci.* 2005;88(6):2238-2245.
22. Heckendorn F, Bieber A, Werne S, Saratsis A, Maurer V, Stricker C. The genetic basis for the selection of dairy goats with enhanced resistance to gastrointestinal nematodes. *Parasite.* 2017;24.
23. Morris CA, Wheeler M, Hosking BC, Watson TG, Hurford AP, Foote BJ, Foote JF. Genetic parameters for milk yield and faecal nematode egg count in Saanen does. *New Zeal J Agr Res.* 1997;40(4):523-528.
24. Safari A, Fogarty NM. Genetic Parameters for sheep production traits: Estimates from the Literature. 2003.
25. Doeschl-Wilson AB, Vagenas D, Kyriazakis I, Bishop SC. Exploring the assumptions underlying genetic variation in host nematode resistance. *Genet. Sel. Evol.* 2008;40(3):241-264.
26. Coop RL, Holmes PH. Nutrition and parasite interaction. *Int J Parasitol.* 1996;26(8-9):951-962.



27. Hoste H, Torres-Acosta JF, Paolini V, Aguilar-Caballero A, Etter E, Lefrileux Y, Chartier C, Broqua C. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Ruminant Res.* 2005;60:141-151.
28. Colditz IG. Six costs of immunity to gastrointestinal nematode infections. *Parasite Immunol.* 2008;30(2):63-70.
29. Mavrogianni VS, Papadopoulos E, Gougoulis DA, Gallidis E, Ptochos S, Fragkou IA, Orfanou DC, Fthenakis GC. Gastrointestinal trichostrongylosis can predispose ewes to clinical mastitis after experimental mammary infection. *Vet Parasitol.* 2017;245:71-77.
30. Kordalis NG, Arsenopoulos K, Vasileiou NGC, Mavrogianni VS, Lianou DT. Field evidence for association between increased gastrointestinal nematode burden and subclinical mastitis in dairy sheep. *Vet Parasitol.* 2019;265:56-62.
31. Sechi S, Salaris S, Scala A, Rupp R, Moreno CR, Bishop SC, Casu S. Estimation of (co)variance components of nematode parasites resistance and somatic cell count in dairy sheep. *Ital J Anim Sci.* 2009;8(sup2):156-158.

## ***Etude 3 : Détection des régions du génome impliquées dans le déterminisme génétique de la résistance au parasitisme et des caractères de production laitière***

*Article en préparation*

La sélection génomique est utilisée pour l'évaluation des béliers candidats à la sélection depuis 2017 en Manech Tête Rousse. Les béliers d'IA sont génotypés en moyenne densité 50K avec la puce « OvineSNP50® » d'Illumina disposant de 54241 SNP répartis sur l'ensemble du génome.

Une recherche de QTL pour les caractères de production laitière et pour l'intensité d'excrétion d'œufs de strongles gastro-intestinaux a été réalisée afin de répondre aux deux questions suivantes :

- existe-t-il un petit nombre de gènes qui contrôlent la résistance au parasitisme sur lesquels on pourrait s'appuyer pour la sélection ?
- existe-t-il des régions du génome communes au déterminisme génétique de la résistance au parasitisme et de la production ?

Des SNP significatifs au seuil de Bonferoni ont été détectés sur les chromosomes 9, 10 et 20 pour les caractères d'excrétion d'œufs de SGI. Le SNP significatif sur le chromosome 20 était situé à proximité du gène DRB1 du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH). La part de variance génétique expliquée par chacune de ces trois régions chromosomiques était inférieure à 10%.

Vingt-sept SNP significatifs au seuil de Bonferoni ont été détectés pour les caractères de production laitière. Plus particulièrement, un SNP sur le chromosome 9 a été détecté à proximité du gène DGAT1 qui est impliqué dans le déterminisme génétique de la quantité de lait et de la composition en matières grasses du lait.

En conclusion, nos résultats sont cohérents avec l'hypothèse d'un déterminisme génétique polygénique de la résistance au parasitisme. Aucun gène ayant un effet fort sur les OPG n'a pu être identifié donc une sélection polygénique classique devrait être mise en place pour ce caractère.

**QTL detection for resistance to the gastrointestinal nematode *Haemonchus contortus* and milk production traits in Blond-faced Manech dairy sheep breed**

Sophie Aguerre<sup>1</sup>, Philippe Jacquet<sup>2</sup>, Léa Bordes<sup>2</sup>, Françoise Prevot<sup>2</sup>, Christelle Grisez<sup>2</sup>, Corinne Vial Novella<sup>3</sup>, Francis Fidelle<sup>3</sup>, Jean-Michel Astruc<sup>4</sup>, Rachel Rupp<sup>1</sup>, Carole Romieux-Moreno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, ENVT, 31320, Castanet-Tolosan, France

<sup>2</sup>UMR INRA-ENVT 1225, Interactions hôtes-agents pathogènes, UMT Santé des Petits Ruminants, 31076, Toulouse, France

<sup>3</sup>CDEO, Quartier Ahetzia, 64130, Ordiarp, France

<sup>4</sup>Institut de l'Élevage, 31321, Castanet-Tolosan, France

Corresponding author

Sophie Aguerre

Telephone: +33 5 61 28 54 53

e-mail address: [sophie.aguerre@inra.fr](mailto:sophie.aguerre@inra.fr)

## **Abstract**

### **Background**

Gastrointestinal nematodes (GIN) are one of the main health threats to which are exposed grazing sheep. As anthelmintic resistance is increasing in terms of prevalence and geographical repartition, genetic selection appears as one of the most promising strategy to help control GIN infections while reducing the use of anthelmintic drugs. A GWAS was performed in the Blond-faced Manech dairy sheep breed for two purposes: (i) to identify genome regions associated with GIN resistance and (ii) to identify potential common regions for GIN resistance and milk production traits.

### **Results**

Several regions with small effects located on OAR9, 10 and 20 were associated with FEC used in this study as an indicator of GIN resistance. The identification of a region on OAR20 associated with FEC measured at the end of the first infection supported the hypothesis of a role of the major histocompatibility complex in GIN resistance. The GWAS also revealed 27 significant SNPs associated with milk production traits. The DGAT1 gene was identified as a candidate gene for the SNP on OAR9 associated with milk yield. Additionally, a potential common region to FEC and milk fat composition traits (fat yield and fat content) was found on OAR20. However, different regions seem to be involved in the genetic determinism of GIN resistance and mastitis resistance.

### **Conclusion**

The detection of several regions with small effects for FEC is consistent with the hypothesis that GIN resistance is a complex trait with a polygenic genetic determinism. The selection for GIN resistance should not have any detrimental effect on the selection for milk yield, protein milk composition and mastitis resistance. However, further studies are needed to clarify the potential link between FEC and milk fat composition.

## Introduction

Gastrointestinal nematodes (GIN) are internal parasites to which all small ruminants raised on pasture are exposed (Davies et al., 2006). They have a substantial economic impact due to a decrease in productivity (weight loss, slower growth...) and the costs of anthelmintic treatments (Nieuwhof and Bishop, 2005). The control of GIN infection relying only on the administration of anthelmintic treatments has now reached its limits with the development of resistance to the main classes of anthelmintic drugs in most regions of the world. Sustainable management in the future must be based on a set of complementary control strategies.

It has been shown that resistance varies from one individual to another and that this variability is partly genetic. Heritability estimates generally in the range of 0.2 and 0.4 suggest that an effective selection for GIN resistance can be implemented (Woolaston and Piper, 1996; Bishop et al., 2004; Aguerre et al., 2018). This has been done successfully in some of the main sheep farming countries such as Australia, New Zealand and Uruguay (Bisset et al., 2001; Brown and Fogarty, 2016). However, collecting the phenotypes necessary for this selection usually fecal egg counts (FEC) is costly and time-consuming. It would therefore be interesting for the selection to be able to identify the regions of the genome involved in parasite resistance. The availability of the Illumina OvineSNP50 BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA) may allow a better knowledge of the genetic determinism of this complex trait.

Our study was carried out in the second basin for milk sheep farming in France where the climatic conditions are particularly favorable to parasites. Herds are generally raised on pasture for most of the year. As a result they are frequently exposed to GIN. However, the therapeutic arsenal is reduced due to regulatory restrictions on milk consumption and growing resistance of GIN to the anthelmintic treatments (Jacquiet et al., 2014). In addition, dairy herds are composed of adult ewes and renewal ewe lambs that are particularly sensitive during the periparturient period as a breakdown of immunity due to the high nutrient requirements for gestation and lactation is now well known (Beasley et al., 2010).

Our objective was to get a better understanding of the genetic determinism of GIN resistance in this breed and its relationship to milk production traits (milk, fat and protein yields, fat and protein

contents and somatic cell score), in particular whether there are common regions to these different traits.

## **Material and methods**

This study was conducted in the ram population of the selection scheme in the French dairy breed Blond-faced Manech. The rams were raised by the breeding organization Centre Départemental de l'Elevage (CDEO, Ordiap, France).

### *Parasitological data*

A total of 951 rams were experimentally challenged twice with third-stage larvae of the parasite *Haemonchus contortus*. The rams were raised indoors and were naïve at the beginning of the experiment. The two consecutive infections, each lasting one month, were separated by a 15-day rest period. Most rams were infected with a dose of 3 500 larvae of the “Humeau” strain in first infection and 5 000 larvae for the second challenge. During the first years of phenotyping, work was carried out to improve the infestation protocol, particularly on the doses of infectious larvae. As a result, the first cohorts of rams received doses different from those indicated here (see details in Aguerre et al., 2018). Feces samples were taken at 30 days post infection (dpi) and FEC were determined using MacMaster technique (Raynaud, 1970). The rams were then treated with ivermectin (0.2 mg/kg of body weight, Oramec<sup>®</sup> Merial) to end the infections.

### *Milk production data*

Six traits were included in the study: milk yield (MY), fat yield (FY), protein yield (PY), fat content (FC), protein content (PC) and somatic cell score (SCS). As part of the milk recording protocol implemented for the selection scheme, milk yield is measured 4 to 6 times per lactation and the

composition of the milk is measured three of the first four milk tests during the first lactation following ICAR guidelines.

We used the daughter yield deviations (DYD) computed for the national genetic evaluations for milk production traits (MY, FY, PY, FC and PC) and lactation average somatic cell score (LSCS). The DYD correspond to the average performance of the female offspring of a ram corrected for the environmental effects and genetic value of the dams (Van Raden and Wiggans, 1991). Only rams whose DYD were calculated from the performance of 15 or more daughters were included in the analysis (Table 1).

The rams were genotyped with the Illumina OvineSNP50 BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA). A quality control was applied to exclude non-polymorphic SNPs, SNPs with a missingness rate higher than 5% or with a minor allele frequency lower than 2% and SNPs deviating from Hardy-Weinberg proportion. A total of 38 696 SNPs located on the 26 ovine autosomes were included in the analyses after this quality control.

### *Statistical analyses*

Prior to further analyses, FEC data were applied a fourth-root transformation to correct for skewness and better fit a normal distribution. To account for differences in the experimental protocol from one year to another, a year×dose effect was applied to the data (9 levels). The majority of rams were 2 or 3 years old at the time of the experimental infection protocol but some were older (see details in Aguerre et al., 2018). A correction for the age of the rams was therefore also applied to the data (4 levels: 1 year old (yo), 2 yo, 3 yo, 4yo and older).

Genome-wide association studies (GWAS) were performed for each trait using the corrected data for FEC and the DYD for the six milk traits with the genome-wide efficient mixed-model association (GEMMA) software (Zhou et al., 2012). The percentage of variance explained by each SNP was

calculated by dividing two times the square of the substitution SNP effect by the genetic variance of the trait.

A Bonferroni correction was applied to account for multiple testing (significance threshold =  $\alpha/\text{number of SNPs}$  with  $\alpha=5\%$ ). After correction, the threshold is equal to  $10^{-6}$ .

Potential candidate genes were searched in the regions of significant SNPs using the NCBI genome browser (Oar\_v3.1).

## Results and discussion

The values observed for FEC demonstrate that the protocol of experimental infection allow to observe a variability of response in rams (Table 1). The rams DYD calculated with the phenotypes for milk production of their daughters also show a variability around the mean centered at 0.

For parasite resistance, three significant SNPs were identified on OAR9, OAR10 and OAR20, together explaining 8% and 3% of genetic variance for FEC at the end of the first and second infections respectively.

On OAR20, a significant association between FEC measured at the end of the first infection and a SNP was found at position 23.6 Mbp. A good candidate gene is the DRB1 locus (location: 25,388,538 - 25,402,990 bp) of the major histocompatibility complex (MHC) which is involved in the induction and regulation of the immune response. The role of the MHC in the resistance to GIN is not yet well established as inconsistent results have been published on the subject. This region was identified as significantly correlated to *Strongyles* FEC in dairy sheep (Casu et al., 2013) and later confirmed by Riggio et al. (2014) in their meta-analysis. Significant association between DRB1 and GIN resistance



was also established in Scottish Blackface sheep in natural infection where *O. circumcincta* was predominant, homozygous sheep having higher FEC than heterozygotes (Schwaiger et al., 1995).

On OAR10, a significant SNP at 65.4 Mbp affected FEC at the end of the first infection. A close region was located at 59-60 cM in Spanish Churra dairy sheep associated to FEC measured in natural conditions of infestation (Gutiérrez et al., 2009).

On OAR9, a significant SNP was identified for FEC measured at the end of the second infection at 31.4 Mbp For. This region was also detected in Spanish Churra ewes (between 24.5 cM and 41.7 cM) (Atlija et al., 2016).

Consequently, all QTL regions detected in our study were previously detected in other breeds. However, some extra work will be necessary to check if the causal mutations underlying these QTL are identical. The QTL affecting FEC explained 6 to 16% of the genetic variance. This result suggests that the rest of the genetic variance is due to other genes with a very small effect which are statistically impossible to detect in our study (850 rams). These results suggest a polygenic genetic determinism of GIN resistance in the Blond-faced Manech dairy breed. This is in accordance with the conclusion of all the other papers about QTL detection on GIN resistance in sheep: there are a large number of polymorphisms affecting GIN resistance (Kemper et al., 2011 ; McManus et al., 2014). In addition, a polygenic determinism is consistent with the numerous mechanisms and the complexity of the immune response to GIN infection (Riggio et al., 2013).

Several regions were identified for the six milk production traits as well (Table 2 & Figure 1). The percentage of genetic variance explained by these regions ranged from 1.2% and 4.6% for MY, FY, PY, FC and PC. It was higher for SCS (around 9%) (Table 2).

Two regions were identified for MY on OAR4 and OAR9. The most noteworthy result is the region identified on OAR9 associated to MY which was detected at the Bonferroni level ( $10^{-6}$ ). The DGAT1 gene is a strong positional candidate located at less than 1Mbp of the most significant SNP. The DGAT1 gene has been extensively studied in cattle because of its role on fat percentage in milk in

cattle (Schennink et al., 2007), in goats (Martin et al., 2017) and in sheep (Scatà et al., 2009). Additionally, in cattle the variant K232A of DGAT1 might induce increases in milk yield (Grisart et al., 2004; Thaller et al., 2003).

Our results were compared with regions identified in the Lacaune dairy breed which is the first breed in terms of animal numbers in the French dairy sheep industry (Oget et al., 2019). In this breed, a major QTL associated with SCC was found on OAR3. A mutation in the *suppressor of cytokine signaling 2 (Socs2)* gene was identified as the cause of an antagonist effect between health and growth (Rupp et al., 2015). We were not able to identify this gene in our analyses but to our knowledge this gene has never been identified in the Blond-faced Manech breed so far.

Finally, the locations of the significant SNPs for FEC were compared to the locations of the significant SNPs for milk production traits.

The SNP found significant for FEC OAR20 (location: 23.6 Mbp) was located close to SNPs identified for FY (location: 19.3 Mbp) and for FC (location: 26.2 Mbp). This result suggests a potential relationship between GIN resistance and milk fat composition.

No common region was identified for FEC and SCS. This is consistent with the low genetic correlation estimated in a previous study (Aguerre et al., submitted). SCS is used as an indicator for selection for mastitis (Rupp et al., 2015). Gastrointestinal parasites and mastitis are two of the main infectious disease affecting sheep (Davies et al., 2009). This result is thus encouraging for the inclusion of GIN resistance in the Blond-faced Manech breeding objective which already includes mastitis resistance.

## **Conclusion**

A few number of QTL with low effects (less than 10% of the genetic variance) were identified in the present study). A polygenic genetic determinism of GIN resistance in the Blond-faced Manech is then assumed. A classical polygenic or genomic selection is therefore recommended for the inclusion of GIN resistance in the Blond-faced Manech breed. Additionally, two regions seem to be close to positional candidate genes: MHC for FEC and milk fat composition and DGAT1 for milk yield. Further analysis should be carried out to confirm the causality of these mutations.

## References

Aguerre S., Jacquet P., Brodier H., Bournazel J.P., Grisez C., Prévot F., Michot L., Fidelle F., Astruc J.M., Moreno C.R. Resistance to gastrointestinal nematodes in dairy sheep: Genetic variability and relevance of artificial infection of nucleus rams to select for resistant ewes on farms. *Vet Parasitol.* 2018;256:16-23.

Atlija M, Arranz, J.J., Martinez-Valladares, M., Gutiérrez-Gil, B. Detection and replication of QTL underlying resistance to gastrointestinal nematodes in adult sheep using the ovine 50K SNP array. *Genet Sel Evol.* 2016;48: 1.

Beasley A.M. KLP, Windon R.G. The periparturient relaxation of immunity in Merino ewes infected with *Trichostrongylus colubriformis*: Parasitological and immunological responses. *Veterinary parasitology.* 2010;168(1-2):60-70.

Bishop S.C. JF, Coop R.L., Stear M.J. Genetic parameters for resistance to nematode infections in Texel lambs and their utility in breeding programs. *Animal Science.* 2004;78: 185-94.

Bisset SA, Morris CA, McEwan JC, Vlassof A. Breeding sheep in New Zealand that are less reliant on anthelmintics to maintain health and productivity. *New Zealand Veterinary Journal.* 2001;49(6):236-46.

Brown D.J., Fogarty N.M. Genetic relationships between internal parasite resistance and production traits in Merino sheep. *Animal Production Science.* 2016;57:209-15.

Casu S. UMG, Sechi S., Casula M., Congiu G.B., Miari S., Mulas G., Salaris S., Sechi T., Scala A., Carta A., editor. Genome-wide association analysis of resistance to gastro-intestinal parasites in dairy sheep. 64th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science; 2013 26-30 August 2013; Nantes, France

Davies G., Genini S., Bishop S.C., Giuffra E. An assessment of opportunities to dissect host genetic variation in resistance to infectious diseases in livestock. *Animal.* 2009;3(3): 415-36.

Davies G., Stear M.J., Benothman M., Abuagob O., Kerr A., Mitchell S., Bishop S.C. Quantitative trait loci associated with parasitic infection in Scottish blackface sheep. *Heredity.* 2006;96: 252-8.

Grisart B. CW, Farnir F., Karim L., Ford C., Berzi P., Cambisano N., Mni M., Reid S., Simon P., Spelman R., Georges M., Snell R. Positional Candidate Cloning of a QTL in Dairy Cattle: Identification of a Missense Mutation in the Bovine DGAT1 Gene with Major Effect on Milk Yield and Composition *Genome Res.* 2002;12:222-31.

Grisart B. FF, Karim L., Cambisano N., Kim J.J., Kvasz A., Mni M., Simon P., Frère J.M., Coppieters W., Georges M. Genetic and functional confirmation of the causality of the DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2004;101(8):2398-403.

Gutiérrez-Gil B, Pérez, J., Alvarez, L., Martínez-Valladares, M., de la Fuente, L.F., Bayon, Y., Meana, A., San Primitivo, F., Rojo-Vazquez, F.A., Arranz, J.J. Quantitative trait loci for resistance to trichostrongylid infection in Spanish Churra sheep. *Genet Sel Evol.* 2009;41:1-46.

Jacquet P., Fidelle F., Lepetitcolin E., Privat S., Gaillac C., Bergeaud J.P., Hoste H. Etat des lieux de la résistance aux anthelminthiques en France chez les ovins. *Le nouveau praticien vétérinaire.* 2014;7(29):16-22.

Kemper K.E. EDL, Bishop S.C., Oddy H., Hayes B., Dominik S., Henshall J.M., Goddard M.E. The distribution of SNP marker effects for faecal worm egg count in sheep, and the feasibility of using these markers to predict genetic merit for resistance to worm infections. *Genet Res.* 2011;93: 203-19.

Martin P. PI, Maroteau C., Bardou P., Canale-Tabet K., Sarry J., Woloszyn F., Bertrand-Michel J., Racke I., Besir H., Rupp R., Tosser-Klopp G. A genome scan for milk production traits in dairy goats reveals two new mutations in Dgat1 reducing milk fat content. *Scientific Reports.* 2017;7: Article 1872.

McManus C., do Prado Paim T., Barros de Melo C., Brasil B.S.A.F., Paiva S.R. Selection methods for resistance to and tolerance of helminths in livestock. *Parasite.* 2014;21.

Nieuwhof GJ, Bishop, S.C. Costs of the major endemic diseases of sheep in Great Britain and the potential benefits of reduction in disease impact. *Animal Science.* 2005;81(1):23-9.

Oget C., Teissier M., Astruc J.M., Tosser-Klop G., Rupp R. Alternative methods improve the accuracy of genomic prediction using information from a causal point mutation in a dairy sheep model. *BMC Genomics.* 2019;20, 719.

Raynaud J.P. Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. *Ann Parasitol.* 1970;45:321-42.

Riggio V., Matika O., Pong-Wong R., Stear M.J., Bishop S.C. Genome-wide association and regional heritability mapping to identify loci underlying variation in nematode resistance and body weight in Scottish Blackface lambs. *Heredity.* 2013;110 420-9.

Riggio V, Pong-Wong, R., Sallé, G., Usai, M.G., Casu, S., Moreno, C.R., Matika, O., Bishop, S.C. A joint analysis to identify loci underlying variation in nematode resistance in three European sheep populations. *Animal Breeding and Genetics.* 2014;131(6):426-36.

Rupp R. SP, Sarry J., Allain C., Tasca C., Ligat L., Portes D., Woloszyn F., Bouchez O., Tabouret G., Lebastard M., Caubet C., Foucras G., Tosser-Klopp G. A Point Mutation in Suppressor of Cytokine Signalling 2 (Socs2) Increases the Susceptibility to Inflammation of the Mammary Gland while Associated with Higher Body Weight and Size and Higher Milk Production in a Sheep Model. *Plos Genetics.* 2015;11:12.

Scatà M.C. NF, Casu S., Carta A., De Matteis G., Signorelli F., Annicchiarico G., Catillo G., Moioli B. Ovine acyl CoA:diacylglycerol acyltransferase 1: Molecular characterization, polymorphisms and association with milk traits. *Anim Genet.* 2009;40: 737-42.

Schennink A. SWM, Visker M.H.P.W., Heck J.M.L., Bovenhuis H., Van Der Poel J.J. . DGAT1 underlies large genetic variation in milk-fat composition of dairy cows *Animal Genetics.* 2007;38(5): 467-73.

Schwaiger F.W., Gostomski D., Stear M.J., Duncan J.L., McKellar Q.A., Epplen J.T., Buitkamp J. An ovine *Major histocompatibility complex DRB1* allele is associated with low faecal egg counts following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. *international Journal for Parasitology.* 1995;25(7):815-22.

Stear M.J. BK, Bishop S.C., Buitkamp J., Epplen J.T., Gostomski D., McKellar Q.A., Schwaiger F.-W., Wallace D.S. An ovine lymphocyte antigen is associated with reduced faecal egg counts in four-month-old lambs following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. *International Journal for Parasitology.* 1996;26(4): 423-8.

Thaller G. KW, Winter A., Kaupe B., Erhardt G., Fries R. Effects of *DGATI* variants on milk production traits in German cattle breeds. *Journal of Animal Science*. 2003;81(8): 1911-8.

VanRaden P.M., Wiggans G.R. Derivation, calculation, and use of national animal model information. *Journal of Dairy Science*. 1991;74(8):2737-46.

Woolaston R.R. PLR. Selection of merino sheep for resistance to *Haemonchus contortus*: genetic variation. *Anim Sci*. 1996;62: 451-60.

Zhou X, Stephens M. Genome-wide efficient mixed-model analysis for association studies. *Nat Genet*. 2012;44: 821-4.

Table 1. Descriptive statistics for milk production traits DYD recorded for 3725 Blond-faced Manech rams and for FEC measured in 957 rams among these rams

Variable	Number of rams			Mean	Standard deviation	Minimum	Maximum
	Phenotyped	Genotyped	with at least 15 daughters				
<i>Phenotypes for parasite resistance</i>							
FEC_inf1_T0 (eggs/g)	951	850	NA	0	0	0	0
FEC_inf1 (eggs/g)	944	850	NA	2567	1886	0	11400
FEC_inf2 (eggs/g)	912	850	NA	2064	1983	0	14900
root_FEC_inf1	944	850	NA	6.5	1.9	0	10.3
root_FEC_inf2	912	850	NA	5.9	2.2	0	11.0
<i>DYD for milk production</i>							
MY (L)	3725	1922	1837	245.8	109.1	-140.2	710.6
FY (kg)	3725	1922	1815	4.4	7.8	-23.1	33.7
PY (kg)	3725	1922	1815	3.5	5.8	-16.1	26.0
FC (g/L)	3725	1922	1815	0.1	2.4	-7.8	8.8
PC (g/L)	3725	1922	1815	0.05	1.2	-3.5	4.4
LSCS	3725	1922	1709	22.9	287.9	-728.9	1362.7

FEC\_inf1: fecal egg count at the end of the first infection

FEC\_inf2: fecal egg count at the end of the second infection

root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 are the fourth-root transformed values for FEC\_inf1 and FEC\_inf2 respectively

MY: milk yield

FY: fat yield

PY: protein yield

FC: fat content

PC: protein content

LSCS: somatic cell score is the somatic cell count after log-transformation



Table 2. List of SNPs associated with GIN resistance and milk production phenotypes for the Blond-faced Manech rams genotyped with the Illumina OvineSNP50 BeadChip.

Trait	SNP	Chromosome	Location	MAF	Pvalue	Genetic variance explained (%)
<i>Phenotypes for parasite resistance</i>						
rac_fec_inf1 (eggs/gram)	OAR10_69344806.1	10	65448086	0.443	3.77e-06	4.4
	OAR20_24926948.1	20	23649186	0.401	1.69e-05	3.6
rac_fec_inf2 (eggs/gram)	OAR9_32911813.1	9	31402254	0.122	6.38e-06	3.2
<i>Phenotypes for milk production</i>						
MY	OAR4_72336108.1	4	67676880	0.220	6.68e-07	2.8
	OAR9_12984647.1	9	12574759	0.229	8.67e-07	2.5
FY	OAR2_63872672.1	2	59725417	0.399	2.63e-05	2.4
	OAR3_215247200.1	3	19983443	0.491	2.23e-05	2.3
PY	s45440.1	13	61152324	0.211	2.47e-05	2.5
	OAR20_20081235.1	20	19278516	0.491	2.89e-05	2.2
	s20102.1	4	25733338	0.363	3.51e-05	2.0
FC	OAR2_215209646.1	2	20417504	0.495	2.70e-05	1.8
	OAR3_146778162.1	3	13724940	0.439	3.61e-05	1.9
	OAR3_146832060.1	3	13729525	0.309	1.18e-06	2.2
	OAR4_42962215.1	4	40078094	0.281	2.26e-05	2.0
	s19346.1	13	62210378	0.178	3.84e-05	1.5
	s27858.1	13	62618894	0.147	5.60e-06	2.0
	OAR13_67687804.1	13	62629748	0.155	2.68e-05	1.7
	OAR17_10041912.1	17	9096958	0.421	3.34e-08	2.8
	OAR20_28614015.1	20	26202017	0.474	1.72e-05	1.7
	OAR20_33384221.1	20	30084606	0.487	3.68e-05	1.7
PC	s02808.1	20	30879395	0.228	8.56e-06	1.8
	s60466.1	1	26154017	0.490	5.19e-06	1.5
	OAR1_282385067.1	1	26155070	0.486	4.19e-06	1.5
	OAR3_146832060.1	3	13729525	0.309	2.30e-06	1.6
	OAR3_148319465.1	3	13850963	0.196	3.51e-05	1.2
	OAR4_72336108.1	4	67676880	0.220	1.58e-06	1.6
	OAR4_72380844.1	4	67728265	0.343	8.53e-07	1.8
	OAR7_77910619.1	7	70978925	0.338	2.49e-05	1.2
LSCS	s16593.1	18	34329163	0.242	2.20e-05	4.4
	OAR20_39211033.1	20	35373003	0.480	3.01e-05	4.6

root\_FEC\_inf1 and root\_FEC\_inf2 are the fourth-root transformed values for FEC\_inf1 and FEC\_inf2 respectively

MY: milk yield

FY: fat yield

PY: protein yield

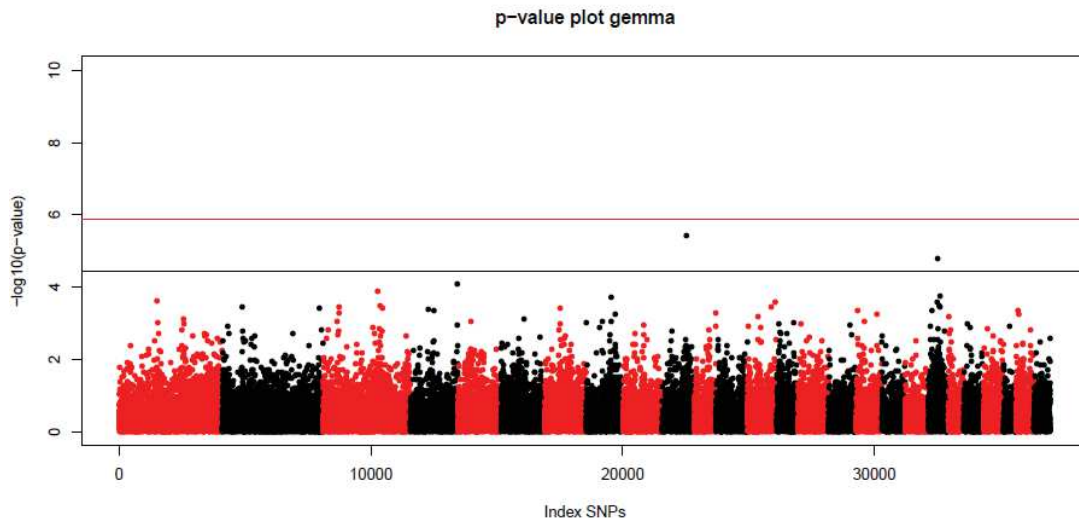
FC: fat content

PC: protein content

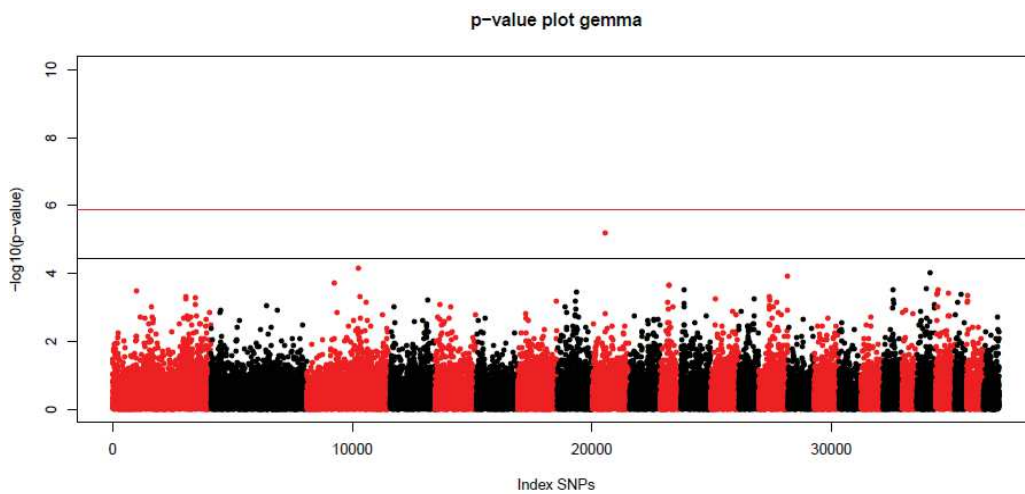
LSCS: somatic cell score is the somatic cell count after log-transformation

Figure 1: Manhattan plot obtained from the genome-wide association study (GWAS) performed for FEC and milk production traits in Blond-Faced Manech breed.

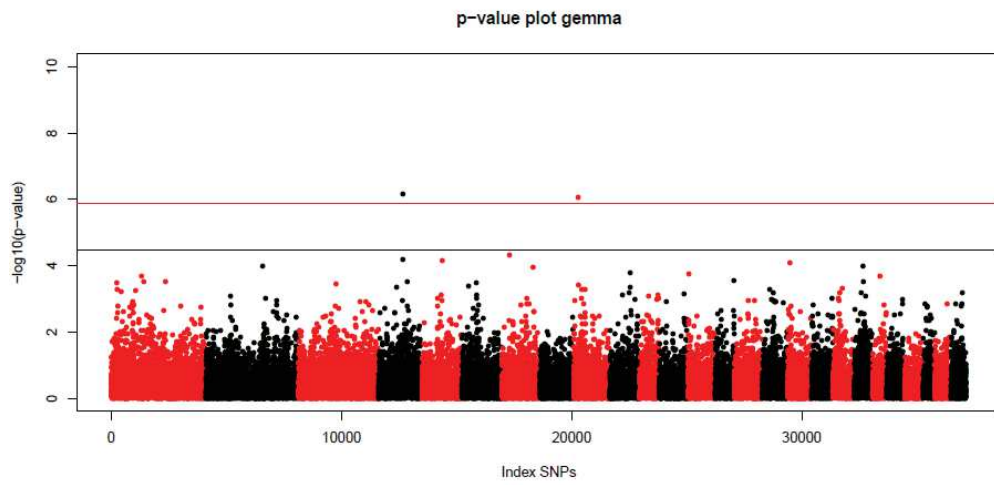
(a) FEC measured at the end of the first infection



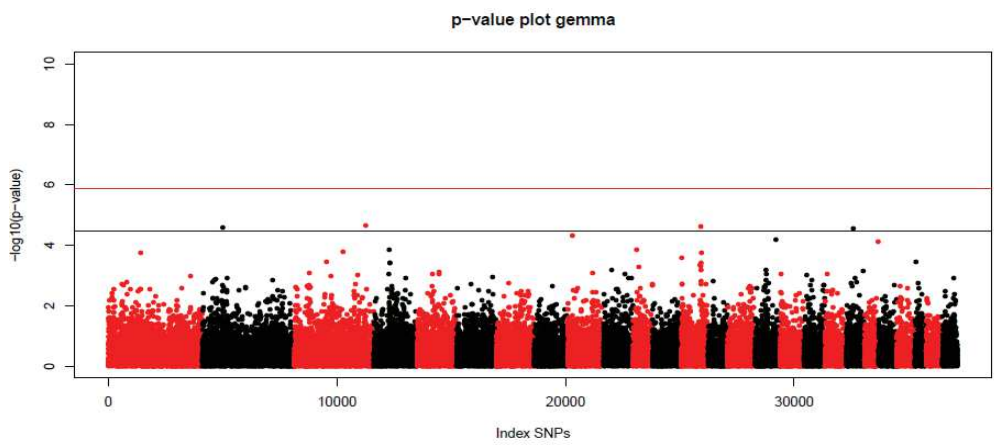
(b) FEC measured at the end of the second infection



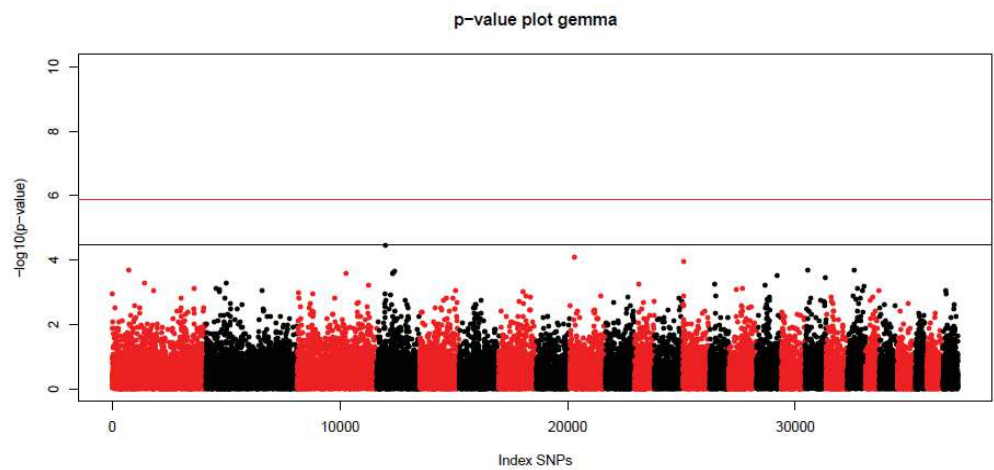
(c) Milk yield



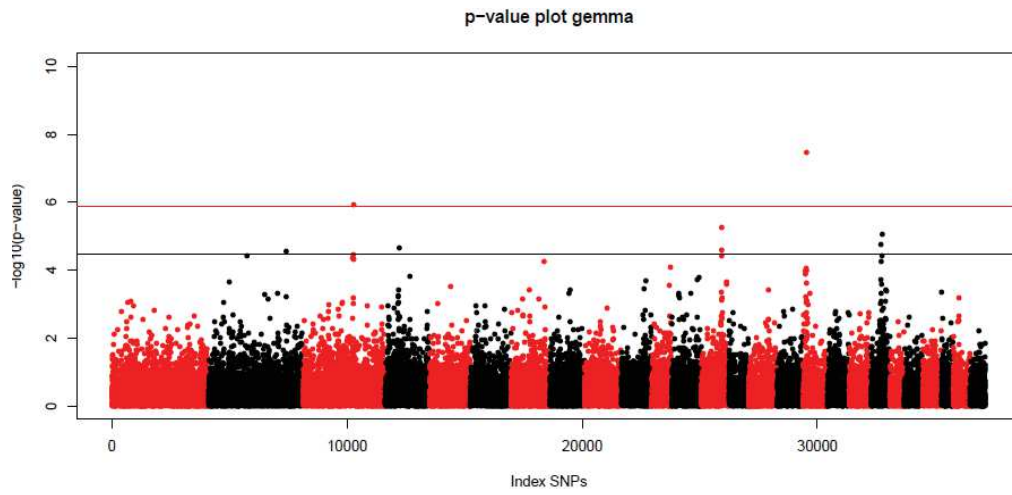
(d) Fat yield



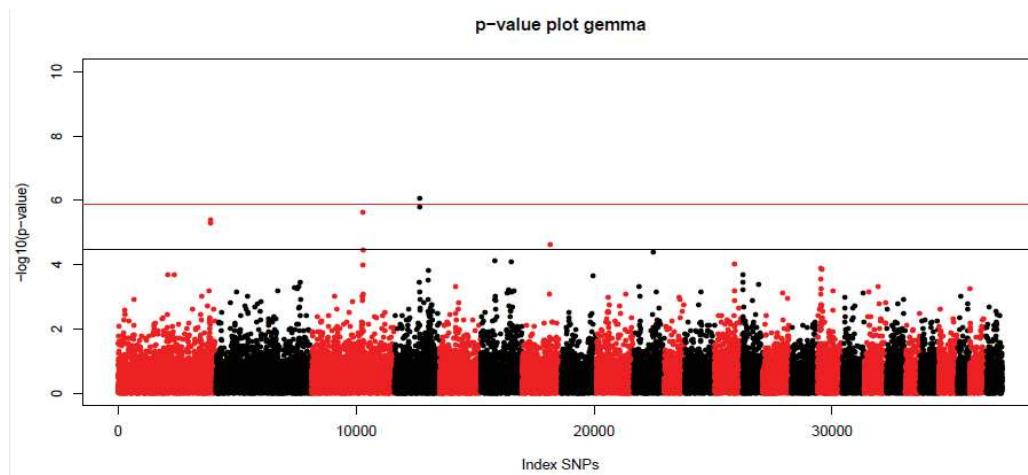
(e) Protein yield



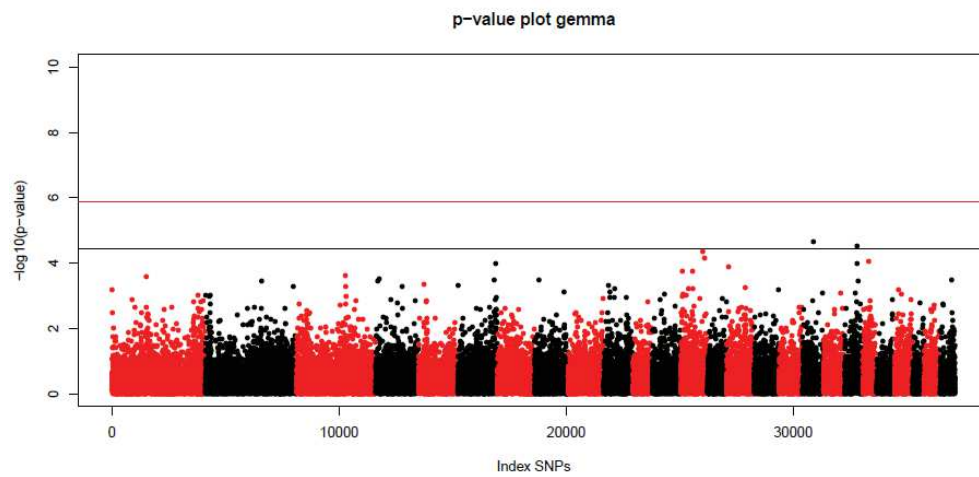
(f) Fat content



(g) Protein content



(h) Somatic cell count



## ***Etude 4 : Etude de potentiels compromis entre la résistance aux strongles gastro-intestinaux et les fonctions biologiques chez des agnelles en croissance***

*Article en préparation*

L'objectif de cette étude était double : (i) estimer l'efficacité de la sélection sur le long terme et (ii) évaluer les impacts que la sélection pour la résistance au parasitisme pourrait avoir sur les caractères de production chez des agnelles en croissance. L'analyse a porté sur 91 agnelles issues de lignées divergentes sélectionnées pour leur résistance ou leur sensibilité au nématode *H. contortus* en infestation expérimentale. Les agnelles ont été soumises au protocole d'infestation expérimentale. Les phénotypes étudiés étaient les suivants :

- le nombre d'œufs excrétés dans les fèces
- l'hématocrite
- le poids
- l'épaisseur de gras dorsale
- l'épaisseur de muscle dorsale

L'analyse des données parasitologiques a permis de mettre en évidence un ratio de 10 entre les intensités d'excrétion d'œufs de SGI des agnelles de la lignée résistante et de la lignée sensible. Une différence significative de dépôt de gras a aussi été mise en évidence entre les deux lignées lors de l'infestation. Le suivi en cinétique des 42 agnelles ayant les potentiels génétiques les plus extrêmes a montré que ces différences apparaissent entre les lignées tôt dans l'infestation.

Les agnelles de la lignée résistante excrètent peu voire pas d'œufs dans les fèces. Des mécanismes de résistance se mettent en place rapidement après l'infestation avec probablement un effet sur l'installation des larves dans la caillette. Il semblerait que cette réponse soit associée à une mobilisation d'énergie plus importante chez les agnelles de la lignée résistante que chez les agnelles de la lignée sensible au cours des trois semaines qui ont suivi l'infestation.

**Highly effective selection for resistance to *Haemonchus contortus* experimental infections may be associated to an energy cost of the immune response in growing sheep**

S. Aguerre<sup>1</sup>, F.Douhard<sup>1</sup>, C. Grisez<sup>2</sup>, F. Prévot<sup>2</sup>, D.Marcon<sup>3</sup>, F. Bouvier<sup>3</sup>, J.L. Weisbecker<sup>1</sup>, A. Doeschl-Wilson<sup>4</sup>, P. Jacquet<sup>2</sup>, C.R. Moreno<sup>1</sup>

<sup>1</sup> GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, ENVT, 31320, Castanet-Tolosan, France

<sup>2</sup> UMR INRA-ENVT 1225, Interactions hôtes-agents pathogènes, UMT Santé des Petits Ruminants, 31076, Toulouse, France

<sup>3</sup> Unité Expérimentale La Sapinière, INRA, Osmoy, France

<sup>4</sup> The Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, Edinburgh, UK

Corresponding author

Sophie Aguerre

Telephone: +33 5 61 28 54 53

e-mail address: [sophie.aguerre@inra.fr](mailto:sophie.aguerre@inra.fr)

**Abstract**

Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes (GIN) has been increasingly reported in small ruminants worldwide over the last years. Genetic selection for enhanced resistance to GIN appears as a promising way to control GIN infections in grazing ruminants but its interaction with host tolerance (i.e. the change in performance according to the level of infection) is challenging to measure and mostly unknown. The objective of this study was (i) to evaluate the long-term effectiveness of genetic selection for GIN resistance in sheep and (ii) to study the potential impact of this selection on growth traits over the time course of infection. A divergent selection based on faecal egg count measured at the end of two consecutive artificial infections with *Haemonchus contortus* has been performed in the Romane meat breed. After two generations of selection, 91 naïve female lambs (51 from the resistant (R) line and 40 from the (S) line) were successively infected at 3 to 4 months of age with 3 500 L3 larvae of *H. contortus* for 28 days and 10 000 L3 for 35 days. Faecal egg counts (FEC), haematocrit, body weight (BW), back fat thickness (BFT) and muscle depth (MD) were measured at the beginning and at the end of the second infection in all 91 females and twice a week over the course of infection in the 42 lambs with the most extreme genetic potential.

Lambs from R line excreted on average 10 times less parasite eggs than those from S line and had 2 points higher haematocrit. BFT gain was 20% higher in the S line than in R line but no difference in body weight or muscle depth was observed.

Selection for resistance to *H. contortus* based on experimental infection resulted in a highly effective immune response in growing female lambs. However, our results suggest that breeding for resistance may be associated with a potential energy cost and affect fat deposition in the first weeks following the infection.

Individual responses to the infection were studied by analysing joint evolution of FEC and growth traits (BFT, MD and BW). Groups were created based on (i) line and (ii) similarity of the joint evolution of the traits. Our data did not reveal a specific evolution for R or S line.

**Keywords:** sheep, gastrointestinal nematodes, host genetic resistance, divergent lines, back fat thickness



## Introduction

Sustainable management of gastrointestinal nematode (GIN) infections has become a crucial issue for the sheep industry (Hoste and Torres-Acosta, 2011). These parasites have a substantial economic weight due to their impact on the productivity and veterinary costs (McLeod, 1995; Sackett and Holmes, 2006). Conventional control of GIN infections has been mainly based on anthelmintic treatments until now (Waller, 2006) but their systematic use has favoured the rapid development of resistance to the main classes of anthelmintics in nematode populations worldwide and especially in sheep GIN (Kaplan, 2004).

Investigations are being carried out to develop control strategies that are less reliant on anthelmintic treatments with an increasing interest in genetic selection for resistance to parasites (Waller and Thamsborg, 2004). The number of eggs excreted per gram of faeces (faecal egg count FEC) is classically used to measure the resistance of the animals (Khusro et al., 2004; Kemper et al., 2010; Mandonnet et al., 2001). This trait is moderately heritable ( $h^2$  ranging from 0.2 to 0.4) and can be used successfully to select for GIN resistance (Bishop et al., 2004; Goldberg et al., 2012).

In contrast to susceptible animals, resistant animals should avoid some detrimental effects caused by infection such as tissue damage caused by the larvae establishment and reduced feed intake (Charlier *et al.*, 2014).

Conversely, developing and maintaining a strong immune response could entail a nutritional cost of being resistant, especially when animals are underfed (Greer, 2008; Colditz, 2008). Therefore genetic selection for an enhanced immune response towards GIN infection could be at the expense of other biological functions of interest.

In particular, growth is a period generally associated with higher susceptibility to GIN infections in lambs due to the high physiological demand for nutrients and the lack of a sufficiently well-developed acquired immune response (Kahn *et al.*, 1999; Greer, 2008).

In this study, we focused on the growth of female lambs in the Romane meat breed divergently selected for increased or decreased resistance to *Haemonchus contortus* as measured by FEC following experimental infection (Sallé *et al.*, submitted). Divergent lines are a unique resource to investigate the long-term implications of the genetic selection for an increased resistance to GIN infections on other biological functions such as growth, gestation or lactation.

Our objective was twofold: (i) to assess the effectiveness of genetic selection for resistance to *H. contortus* based on animals response (FEC, haematocrit) to experimental infections, and (ii) to evaluate the effects of genetic resistance on the change in growth traits (body weight, back fat thickness and muscle depth) over the time course of infection.

## **Material and methods**

The experimental procedures described hereafter were approved by the French Ministry for Higher Education and Research and the Centre Val de Loire ethics committee under the experimental approval D18-174-01.

### *Animals*

The divergent selection on resistance to *H. contortus* took place at the experimental INRA farm (La Sapinière, Osmoy, France) and is described in details by Sallé *et al.* (submitted).

Briefly, 217 lambs of the Romane meat breed (127 males and 144 females) were artificially infected at about 6 months of age with *H. contortus* third-stage larvae (L3) of the Humeau strain. Prior to the infection, all sheep were born, reared and maintained worm-free. After the experimental infection protocol (identical to the experimental protocol described hereafter), lambs were selected based on FEC with a selection pressure of 3% on males and 30% on females. The observed divergence in generation 1 was  $1.0 \sigma_p$  and  $3.5 \sigma_g$ .

The most resistant and the most susceptible animals of the generations 0 (G0) and 1 (G1) were selected based on their breeding values for resistance to GIN. A generation 2 (G2) was produced by mating 7 G1 sires (n=3 and n=4 for R and S lines respectively) with 37 G0 dams (n=22 and n=15 for R and S lines) and 32 G1 dams (n=14 and n=18 for R and S lines). All 91 female lambs from G2 (n=51 and n=40 for R and S line respectively) were involved in the experiment described hereafter.

#### *Artificial infection protocol*

Lambs were born in 2017 between August 29<sup>th</sup> and October 10<sup>th</sup>. They were 3 to 4 months old at the beginning of the protocol without significant age difference between lines. Before the experiments they were naïve towards *H. contortus* and were housed indoors during the whole experiment to prevent natural infection by GIN. Lambs from both lines were kept together into 4 pens and managed identically. They were fed *ad libitum* with forage, granulated feed adapted to their age. During the experimental protocol, lambs were challenged twice with *H. contortus* infective larvae with a two-week rest period between the two infections. They were orally infected with 3 500 larvae for 28 days and 10 000 larvae for 35 days in first and second infection respectively. They were drenched at the end of each infection with 0.2 mg/kg of live weight of ivermectin (Oramec, Merial). During this period, lambs were fed *ad libitum* with a protein-rich concentrate and straw.

#### *Measurement of infection severity and growth traits*

The first infection was only performed to initiate the immune response. In this study, we focused on the measures recorded during the second infection. The first day of second infection was considered as day 0 in the following of the article.

At the beginning (day 0) and at the end (day 35) of the second infection, blood samples and faeces samples were taken from the 91 female lambs to measure haematocrit and faecal egg counts (FEC) using the MacMaster technique (Raynaud, 1970). The body weight (BW) of the lambs was recorded

and dorsal ultrasounds were performed to measure back fat thickness (BFT) and muscle depth (MD) on the left and right side at the 3<sup>rd</sup>-4<sup>th</sup> lumbar vertebral.

The 42 female lambs (21 R and 21 S) with the most extreme expected breeding value for FEC at day 35 (average of their parent breeding values) were followed more accurately during the second infection to obtain longitudinal measurement of the 5 previous traits at day 17, 21, 24, 28, 31 and 35.

### *Statistical analyses*

BFT and MD were defined as the average of the measures performed on the left and right sides of the animals after checking the phenotypic correlations between the two measures.

For all 91 female lambs and for the five traits (FEC after log transformation, haematocrit, BFT, MD and BW), analyses were performed on the measures recorded at day 0 (FEC\_0, haematocrit\_0, BFT\_0, MD\_0 and BW\_0) and at day 35 for FEC (FEC\_35) and on the variations between day 0 and day 35 for the 4 other traits (haematocrit\_var, BFT\_var, MD\_var and BW\_var).

A log-transformation was applied to the FEC data to correct the data for skewness prior to further analyses. Variance analyses were performed with the SAS software GLM procedure (SASTM Inst. Cary, NC, USA). For the different traits, variance analyses were performed to estimate the effects of line (2 levels: R and S) and pen group (4 levels). The body weight at day 0 (BW\_0) was also fitted as a covariate for BFT and MD to account for potential initial differences in body size.

For each of the 42 female lambs involved in the longitudinal follow-up, analyses of variance were performed at each time points. The different analysed traits were noted as follows: FEC\_t, haematocrit\_t, BFT\_t, MD\_t and BW\_t (with t = 0, 17, 21, 24, 28, 31, 35). As before, the model included a pen group effect for all traits and BW\_0 as a covariate for BFT and MD. For all traits, the line effect was tested at each time point to detect potential differences between lines.

In order to identify putative differences between lines in the joint evolution of resistance trait (FEC) and tolerance traits (BFT, MD and BW variations), the method developed by Lough *et al.* (2015) was used for the 42 female lambs in the longitudinal follow-up. This method proposes to represent the variations over the time course of infection by numerical sequences. For example, if we consider FEC and BW, the changes between two time points were coded as follows: 1 if a decrease of FEC was associated to an increase of BW; 2 if a decrease of FEC was associated with a decrease of BW; 3 if an increase of FEC was associated with a decrease of BW and 4 if an increase of FEC was associated with an increase of BW (Figure 1).

Only complete sequences were considered. For the joint evolution of BW and FEC, the sequences were composed of 5 numbers representing the variations of these traits during the whole infection. For the joint evolution of BFT and FEC and for the joint evolution of MD and FEC, shorter sequences (3 numbers) representing the variations of the traits between day 0 and day 24 to day 35 were used because of missing data at the beginning of the infection.

Then groups of sequences were formed following two approaches. First, sequences were grouped according to the line origin of animals. Permutation test were performed to statistically test the difference between the sequences of R and S lines and search a sequence specific of each line. Secondly, animals with strictly identical sequences were grouped independently of the line origin. Permutation test were performed to identify the significant difference between the sequence groups.

## Results

At the beginning of the second infection, FEC measures confirmed that no eggs were excreted by the lambs. Basal haematocrit level (haematocrit\_0) was statistically similar between lines as well as BW\_0, BFT\_0 and MD\_0 (Table 1).

The data collected on all 91 female lambs showed that FEC were 10 times lower in R line than in S line with 167 and 1921 eggs per gram respectively at the end of the second infection (Table 2). The percentage of female lambs with no eggs in the faeces at the end of the second infection was 63% in the R line and 18% in the S line. In contrast, the proportion of high shedders defined as individuals excreting more than 1 000 eggs per gram, was 35% in S line with a maximum of 18 750 eggs per gram whereas only 3 lambs among the 51 R lambs were high shedders with a maximum of 2 200 eggs per gram (Table 2 and Figure 2). The statistical analysis of these data indicated a highly significant difference in log\_FEC\_35 between lines ( $P < 0.0001$ ) in the whole group of 91 lambs (Table 2). The haematocrit loss during the infection was also significantly lower in R line than in S line with a loss of 1.7 point and 3.9 points in R and S lines respectively (Table 2).

BFT, MD and BW increased in both lines during the infection. The gain in BFT was 20% higher in S line than in R line but no difference was observed in BW gain or MD gain between lines (Table 2). The BFT and MD measures recorded five months after the end of the protocol showed no significant difference between the R and S lines (p-value : 0.38 and 0.37 for BFT and MD respectively).

Phenotypic correlations between right and left sides of the animal back ranged from 0.57 to 0.84 for BFT and from 0.56 to 0.74 for MD. In addition, phenotypic correlations ranging from 0.80 to 0.90 for BFT measures were found between 17 days post infection (d.p.i.) and 35 d.p.i. For MD, these correlations were lower (range: 0.32 to 0.73).

The follow-up of the 42 most extreme females allowed us to monitor more precisely the response to the infection of each individual and in particular the timing of changes in FEC, haematocrit, BW, BFT and MD. We observed that the differences between the two lines described above occurred early in the infection (Figure 3). Significant differences between lines were observed from day 24 for haematocrit and FEC. Significant differences were also observed for BFT from day 17, though it should be noted

that a limited number of data were collected on day 17. For the 3 traits, the differences then persisted until day 35.

To study the joint evolution of FEC with respect to the gain in BFT, MD and BW, the sequences of the 42 lambs were analysed using two strategies: groups of lambs from the same line (R versus S) or groups of lambs having identical sequences. No significant difference was found whatever the considered traits (FEC with BFT or MD or BW) between groups based on line (Table 5). For groups composed of lambs with identical sequences, no significant difference was found for the joint evolution of FEC with BFT. For the joint evolution of FEC with MD and FEC with BW some groups were statistically different from the other (Table 5). But no specific sequence of line R or line S could be identified within groups.

## **Discussion**

Our first objective was to evaluate the long-term effectiveness of genetic selection for resistance to *H. contortus*. Our results suggest that genetic selection based on the response to artificial challenge is a highly effective strategy to improve sheep resistance to GIN infections. We observed in R line a high percentage of individuals that do not excrete parasite eggs, a low proportion of high shedders and a drastic reduction in the number of eggs excreted by high shedders in comparison with animals in S line. All these factors contributed to the significant difference between the average FEC of the two lines. These results were obtained in only two generations due to a high selection pressure on the males (3% of the males and around 50% of females were kept to produce subsequent generations). In New Zealand, divergent lines have been created on the basis of natural mixed-species challenges since the late 1980s in the Perendale and Romney breeds in particular. In each of these breeds, FEC were respectively 5 and 11 times lower in R line than in S line (Morris *et al.*, 2000; Morris *et al.*, 2005). In Australia, a ratio of 6 between the FEC of R line and S line was observed in the Merino

breed after four generations of selection (Woolaston *et al.*, 1990). The protocol used for this selection was quite close to ours since the lines were selected from an experimental challenge with *H. contortus*. However, their challenge involved only one infection of 10 000 larvae while ours was composed of a pre-infection of 3 500 larvae and an infection of 10 000. In our case, the differences between the FEC of the two lines were greater at the end of the second infection than at the end of the first infection. The first infection could possibly have a stimulating effect on the immune response.

The values observed for FEC in line R suggest that a control of GIN infections less dependent on anthelmintic treatments would be possible thanks to the implementation of genetic selection for better resistance to GIN in sheep. It is likely that the presence in the herds of resistant animals that ingest larvae but excrete few or no parasite eggs will reduce the levels of pasture contamination, thus providing overall protection for the herd. Currently in France, lambs can be drenched 5 to 6 times a year (P. Jacquet, personal communication). The implementation of genetic selection should help to significantly reduce the requirements for anthelmintic treatments.

The second objective of this study was to assess the impact of genetic selection for resistance on BW, BFT and MD dynamics over the time course of infection. Our data did not indicate any significant difference in the gain of BW and MD between the two lines but a significant lower gain in BFT was observed, suggesting a slower fat deposition in the R line than in the S line.

First of all, the quality of the measures of the dorsal ultrasound scans was checked. Dorsal ultrasound has become the method of choice in recent years for measurement of BFT and MD and for prediction of body composition in both cattle and sheep (Lambe *et al.*, 2008). However, many factors can affect the accuracy and repeatability of measurements made by dorsal ultrasound (McLaren *et al.*, 1991). In this study, the same machine was used throughout the protocol. Moreover, high phenotypic correlations were estimated (i) between measures recorded on the left and right sides of the animals



and (ii) between the successive time points for BFT. But these correlations were lower for MD, suggesting that our measures were less accurate for MD.

Resistance to GIN infection is usually ascribed to a protein nutritional cost due to (i) a diversion of proteins from production to the immune response (repair of the digestive mucosa, production of mucus) and (ii) to the compensation for protein lost due to the malabsorption of the nutrients (Knox *et al.*, 2006). But our study may suggest that a potential energy cost of the immune response to GIN infection is likely during the early phase of infection. Another explanation for the difference in fat deposition between lines could be that of a co-selection of FEC and fat deposition. However, this hypothesis seems unlikely because of the absence of differences in BFT between lines before and five months after the infection. Dorsal ultrasounds performed at the beginning of the infection and five months after the end of the protocol did not reveal any significant difference between the two lines ( $p = 0.16$  and  $0.38$  respectively). Therefore the difference in fat deposition appears to be due to the infection, supporting the hypothesis of an energy cost of the immune response. Moreover, the absence of significant difference between lines 5 months after the protocol may indicate that animals have an ability to recover once the infection has been cleared.

The differences in FEC and BFT between the lines appeared early in the infection. They could correspond to early events of the immune response that probably have an impact on larvae establishment or larval and sub-adults growth. This result is in accordance with the study of Gray *et al.* (1992) who observed lower FEC associated to lower worm burdens and lower larval establishment rate in lambs born to resistant sires than in lambs born to susceptible sires.

The relationship between production traits and resistance was studied in other divergent lines. Liu *et al.* (2005) observed no significant difference for BW, wool production and carcass composition in Merino sheep selected for resistance and control sheep. In this experiment, sheep were orally infected with of *Trichostrongylus colubriformis* and *Ostertagia circumcincta* (*Teladorsagia circumcincta* today) for 12 weeks. BW was measured every 2 weeks and wool growth was measured over a 6-week period.

Unfavourable correlated response to selection observed in the divergent lines created in natural conditions of infection in Perendale and Romney breeds mentioned above in which lower body weights and lower fleece weights were recorded in resistant lines (Morris *et al.*, 2000; Morris *et al.*, 2005).

In natural conditions of infection, the doses of ingested larvae and the stage of development of the parasite are unknown and can vary between animals. These variations can cause variations of observed phenotypic and genetic correlations between FEC and production traits (Wilson *et al.*, 2008). In our study, these variations were controlled using experimental infections. However, our observations were made over a relatively short period post infection (35 days post infection maximum). So it is possible that we did not record potential differences between the two lines in BW and MD that may appear later than 35 days after the infection.

Finally, the study of individual joint evolution of FEC with growth traits (BFT or MD or BW) showed that there are several types of response to the infection. No sequence specific of the R or the S line was identified with our data. However, the analysis did not allow for differences in the amplitude of variations to be taken into account. Even if the direction of the variation could be the same for R and S individuals, the amplitude of these variations was different. Our results showed that there is no specific sequence for each line but different amplitudes. The diversity of the observed responses within line is consistent with the polygenic genetic determinism of GIN resistance.

### **Conclusion**

Genetic selection for resistance to *H. contortus* based on experimental infection was highly effective in growing female lambs. But a lower fat deposition was observed in R line suggesting a potential energetic cost of immunity against GIN infection. Resistant animals appear to have higher energy requirements during the early phase of infection. The diversity of individual responses to the

infection supports the hypothesis of a large number of mechanisms involved in the immune response. It would be interesting to study the relationship between FEC and muscle and fat deposition over a longer period of infection and during the periparturient period which is another important period in the productive life of ewes in terms of susceptibility to parasitism.

### **Acknowledgements**

The authors are grateful to the staff of INRA La Sapinière farm for their expertise with the animals and the quality of the data obtained.

This project was funded by the ERANET SUSAN in the project Sustradeoff and by Smarter project funding by the EU Horizon 2020 R&I Program, under grant agreement n°772787.

Sophie Aguerre acknowledges the support of Région Occitanie and INRA Animal Health and Animal Genetics Divisions for her grant.

### **Declaration of interest**

The authors declare that they have no conflict of interest

### **Ethics statement**

The experimental procedures described hereafter were approved by the French Ministry for Higher Education and Research and the Centre Val de Loire ethics committee under the experimental approval D18-174-01.

## References

Bishop S.C., Jackson F., Coop R.L., Stear M.J. Genetic parameters for resistance to nematode infections in Texel lambs and their utility in breeding programs. *Animal Science*. 2004;78:185-94.

Charlier J., van der Voort M., Kenyon F., Skuce P., Vercruyse J. Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. *Trends in Parasitology*. 2014;30(7):361-7.

Colditz I. G. Six costs of immunity to gastrointestinal nematode infections. *Parasite Immunology*. 2008;30(2):63-70

Doeschl-Wilson A.B., Vagenas D., Kyriazakis I., Bishop S.C. Exploring the assumptions underlying genetic variation in host nematode resistance. *Genet Sel Evol*. 2008 2008;40(3):241-64.

Goldberg V., Ciappesoni G., Aguilar I. Genetic parameters for nematode resistance in periparturient ewes and post-weaning lambs in Uruguayan Merino sheep. *Livestock Science*. 2012;147(1-3):181-7.

Gray G.D., Barger I.A., Le Jambre L.F., Douch P.G.C. Parasitological and immunological responses of genetically resistant Merino sheep on pastures contaminated with parasitic nematodes. *International Journal for Parasitology*. 1992;22(4):417-25.

Greer A.W. Trade-offs and benefits: implications of promoting a strong immunity to gastrointestinal parasites in sheep. *Parasite Immunology*. 2008;30:123-32.

Hoste H., Torres-Acosta J.F.J. Non chemical control of helminths in ruminants: Adapting solutions for changing worms in a changing world. *Vet Parasitol*. 2011;180(1-2):144-54.

Houdijk J.G.M. Differential effects of protein and energy scarcity on resistance to nematode parasites. *Small Ruminant Research*. 2012;103(1):41-9.

Kahn L.P., Knox M.R., Gray G.D. Enhancing immunity to nematode parasites in pregnant and lactating sheep through nutrition and genetic selection. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*. 1999;12:15-22.

Kaplan R.M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in Parasitology*. 2004;20(10):477-81

Kemper K.E., Palmer D.G., Liu S.M., Greeff J.C., Bishop S.C., Karlsson L.J.E. Reduction of faecal worm egg count, worm numbers and worm fecundity in sheep selected for worm resistance following artificial infection with *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet Parasitol.* 2010;171(3-4):238-46.

Khusro M., Van der Werf J.H.J., Brown D.J., Ball A. Across flock (co)variance components for faecal worm egg count, live weight, and fleece traits for Australian merinos. *Livestock Production Science.* 2004;91(1-2):35-43.

Knox M.R., Torres-Acosta J., Aguilar-Caballero A.J. Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on resilience and resistance against gastrointestinal nematodes. *Veterinary parasitology.* 2006;139(4):385-93.

Lambe N.R., Navajas E.A., Schofield C.P., Fisher A.V., Simm G., Roehe R., Bünger L. The use of various live animal measurements to predict carcass and meat quality in two divergent lamb breeds. *Meat Science.* 2008;80(4):1138-49.

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., Gao S.B. Comparing productive performance of nematode resistant Merino sheep with non-selected control. *Livestock Production Science.* 2005;97(2-3):117-29.

Lough G., Kyriazakis I., Bergmann S., Lengeling A., Doeschl-Wilson Andrea. Health trajectories reveal the dynamic contributions of host genetic resistance and tolerance to infection outcome. *Proceedings of the Royal Society.* 2015;282(1819).

Mandonnet N., Aumont G., Fleury J., Arquet R., Varo H., Gruner L., Bouix J., Vu Tien Khang J. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics. *Journal of Animal Science.* 2001;79(7):1706-12.

McLaren D.G., Novakofski J., Parrett D.F., Lo L.L., Singh S.D., Neumann K.R., McKeith F.K. A study of operator effects on ultrasonic measures of fat depth and longissimus muscle area in cattle, sheep and pigs *Journal of Animal Science.* 1991;69(1):54-66.

McLeod R.S. Costs of major parasites to the Australian livestock industries. *International Journal for Parasitology.* 1995;25(11):1363-7.

Morris C.A., Vlassoff A., Bisset S.A., Baker R.L., Watson T.G., West C.J., Wheeler M. Continued selection of Romney sheep for resistance or susceptibility to nematode infection: estimates of direct and correlated responses. *Anim Sci.* 2000;70:17-27.

Morris C.A., Wheeler M., Watson T.G., Hosking B.C., Leathwick D.M. Direct and correlated responses to selection for high or low faecal nematode egg count in Perendale sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research.* 2005;48:1-10.

Raynaud J.P. Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. *Ann Parasitol.* 1970; 45:321-42.

Sackett D., Holmes P. Assessing the Economic Cost of Endemic Disease on the Profitability of Australian Beef Cattle and Sheep Producers. Sydney2006.

Sallé G., Deiss V., Marquis C., Tosser-KloppG., Cortet J., Serreau D., Koch C., Marcon D., Bouvier F., Jacquet P., Holroyd N., Berriman M., Blanchard A., Cotton J.A., Mialon M.M., Moreno C.R. Sheep resistant to strongyle express their genetic potential across environments and leave limited scope for parasite plasticity. Submitted for publication.

Waller P.J. Sustainable nematode parasite control strategies for ruminant livestock by grazing management and biological control. *Animal Feed Science and Technology.* 2006;126(3-4):277-89.

Waller P.J., Thamsborg S.M. Nematode control in 'green' ruminant production systems. *Trends in Parasitology.* 2004;20(10):493-7.

Woolaston R.R., Barger I.A., Piper L.R. Response to helminth infection of sheep selected for resistance to *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology.* 1990;20(8):1015-8.

**Table 1: Descriptive statistics for the five traits measured out of infection period (n=91 female lambs)**

Variable	Line	Number of measures	Mean	Standard deviation	Minimum	Maximum	Significance of the difference between lines
<i>At the beginning of the second infection</i>							
FEC_0 (eggs/gram)	R and S	91	0	0	0	0	NS
	R	51	0	0	0	0	
	S	40	0	0	0	0	
Hematocrit_0 (%)	R and S	91	34.2	2.6	30.0	42.8	NS
	R	51	34.2	2.5	30.0	40.7	
	S	40	34.2	2.8	30.0	42.8	
BW_0 (kg)	R and S	91	38.9	0.3	30.0	48.6	NS
	R	51	38.8	0.3	34.1	48.6	
	S	40	39.1	0.3	30.0	47.2	
BFT_0 (mm)	R and S	91	0.8	0.6	-0.8	2.9	NS
	R	51	0.8	0.6	-0.8	2.8	
	S	40	0.9	0.7	-0.08	2.9	
MD_0 (mm)	R and S	91	13.2	1.5	9.9	17.9	NS
	R	51	13.3	1.6	9.9	17.4	
	S	40	13.1	1.3	10.6	17.9	
<i>5 months after the experimental protocol</i>							
BFT_5m (mm)	R and S	91	5.7	0.9	3.9	8.3	NS
	R	51	5.6	0.9	4.0	8.3	
	S	40	5.8	2.0	3.9	8.3	
MD_5m (mm)	R and S	91	25.4	1.9	21.0	29.7	NS
	R	51	25.66	0.9	21.0	29.7	
	S	40	25.2	0.9	21.5	29.5	

FEC: faecal egg count

BW : body weight

BFT: back fat thickness

MD: muscle depth

**Table 2: Descriptive statistics for the five traits measured at the end of the second infection (n=91 female lambs)**

Variable	Line	Number of measures	Mean	Standard deviation	Minimum	Maximum	Significance of the difference between lines
<i>Raw data</i>							
FEC_35 (eggs/gram)	R and S	91	938	2484	0	18 750	
	R	51	167	446	0	2 200	
	S	40	1921	3494	0	18 750	
<i>Corrected data</i>							
log_FEC_35	R and S	91	2.6	3.2	-1.8	8.9	< 0.0001
	R	51	1.0	2.5	-1.8	7.0	
	S	40	53.6	169.3	-0.8	1095.22	
FEC_35 after backtransformation (eggs/gram)	R and S	91	380	1086	0	7550	
	R	51	5	3	0	9	
	S	40	796	1539	0	7550	
Hematocrit_var (%)	R and S	91	-2.7	3.4	-14.0	6.2	0.0002
	R	51	-1.7	3.0	-9.8	6.2	
	S	40	-3.9	3.5	-14.0	0.8	
BW_var (kg)	R and S	91	10.7	1.3	7.7	13.9	NS
	R	51	10.6	1.3	7.8	13.9	
	S	40	10.7	1.4	7.7	13.1	
BFT_var (mm)	R and S	90	1.7	0.8	-0.2	3.8	0.0016
	R	51	1.4	0.7	-0.2	3.4	
	S	39	2.0	0.8	0.4	3.8	
MD_var (mm)	R and S	90	6.9	1.5	3.1	10.6	NS
	R	51	6.9	1.6	3.2	10.6	
	S	39	6.9	1.4	3.1	9.3	

FEC\_35: raw data for faecal egg count measured at day 35

log\_FEC\_35: faecal egg count after log transformation

haematocrit\_var: variation of haematocrit between day 0 and day 35

BFT\_var: variation of back fat thickness between day 0 and day 35

MD\_var: variation of muscle depth between day 0 and day 35



**Table 3: Phenotypic correlations between measures on the left side and measures on the right side for back fat thickness and muscle depth**

Trait	Number of measures	Phenotypic correlation between measures
BFT_0	42	0.57
BFT_17	16	0.84
BFT_24	40	0.72
BFT_28	42	0.82
BFT_31	41	0.81
BFT_35	41	0.69
MD_0	42	0.64
MD_17	16	0.74
MD_24	40	0.73
MD_28	42	0.64
MD_31	41	0.70
MD_35	41	0.56

BFT: back fat thickness

MD: muscle depth

**Table 4: Phenotypic correlations between measures recorded at different time points for back fat thickness and muscle depth**

**(i) Back fat thickness**

Days post infection	BFT_0	BFT_17	BFT_24	BFT_28	BFT_31	BFT_35
<b>BFT_0</b>	1	0.88	0.63	0.63	0.60	0.70
<b>BFT_17</b>		1	0.87	0.90	0.84	0.84
<b>BFT_24</b>			1	0.85	0.82	0.80
<b>BFT_28</b>				1	0.93	0.83
<b>BFT_31</b>					1	0.83
<b>BFT_35</b>						1

**(ii) Muscle depth**

Days post infection	BFT_0	BFT_17	BFT_24	BFT_28	BFT_31	BFT_35
<b>BFT_0</b>	1	0.80	0.48	0.74	0.62	0.58
<b>BFT_17</b>		1	0.45	0.60	0.60	0.32
<b>BFT_24</b>			1	0.69	0.44	0.61
<b>BFT_28</b>				1	0.73	0.66
<b>BFT_31</b>					1	0.60
<b>BFT_35</b>						1

**Table 5: Groups based on the numerical sequences produced from the joint evolution of FEC with BFT gain, MD gain or BW gain over the course of the infection.**

(i) FEC and BFT gain

Group	Sequence	Number of R female lambs	Number of S female lambs	Significance of the difference
1	4 1 4	2	0	a
2	4 4 4	15	3	a
3	1 1 4	0	4	a
4	1 1 1	0	4	a

The sequences were coded as follow: 1 = FEC+ BFT-, 2 = FEC- BFT-, 3=FEC- BFT+ and 4= FEC+ BFT+

(ii) FEC and MD gain

Group	Sequence	Number of R female lambs	Number of S female lambs	Significance of the difference
1	1 1 1	2	0	a
2	4 1 1	1	2	b
3	1 4 4	1	2	a
4	4 4 1	6	6	b
5	1 4 1	3	3	a
6	3 3 2	0	2	c
7	4 4 4	0	3	b

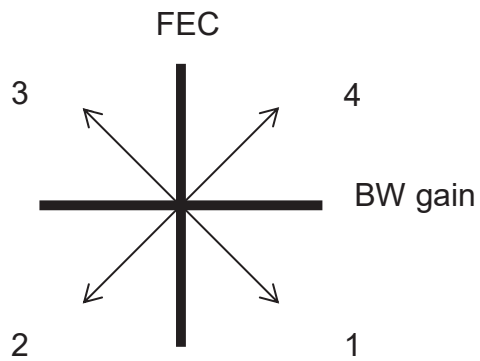
The sequences were coded as follow: 1 = FEC+ BFT-, 2 = FEC- BFT-, 3=FEC- BFT+ and 4= FEC+ BFT+

(iii) FEC and BW gain

Group	Sequences	Number of R female lambs	Number of S female lambs	Significance of the difference
1	4 3 3 3 3	2	2	a
2	4 4 4 4 4	3	11	b
3	4 4 3 3 3	2	0	a
4	4 4 4 4 3	4	0	c
5	4 3 3 3 4	2	0	a
6	1 4 4 4 4	1	3	d
7	1 3 3 3 3	0	2	a
8	4 1 4 4 4	0	2	e

The sequences were coded as follow: 1 = FEC+ BFT-, 2 = FEC- BFT-, 3=FEC- BFT+ and 4= FEC+ BFT+

**Figure 1: Numbers used to create individual sequences according to the joint evolution of FEC and BFT gain, MD gain or BW gain**



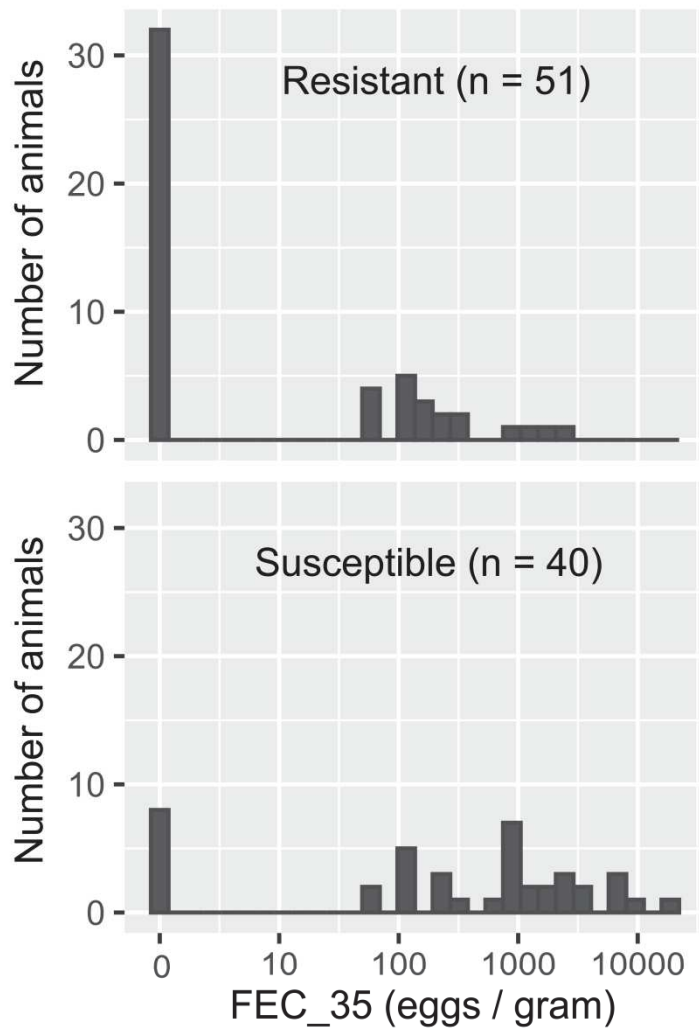
1: decreased FEC associated to increased BW gain

2: decreased FEC associated to decreased BW gain

3: increased FEC associated to decreased BW gain

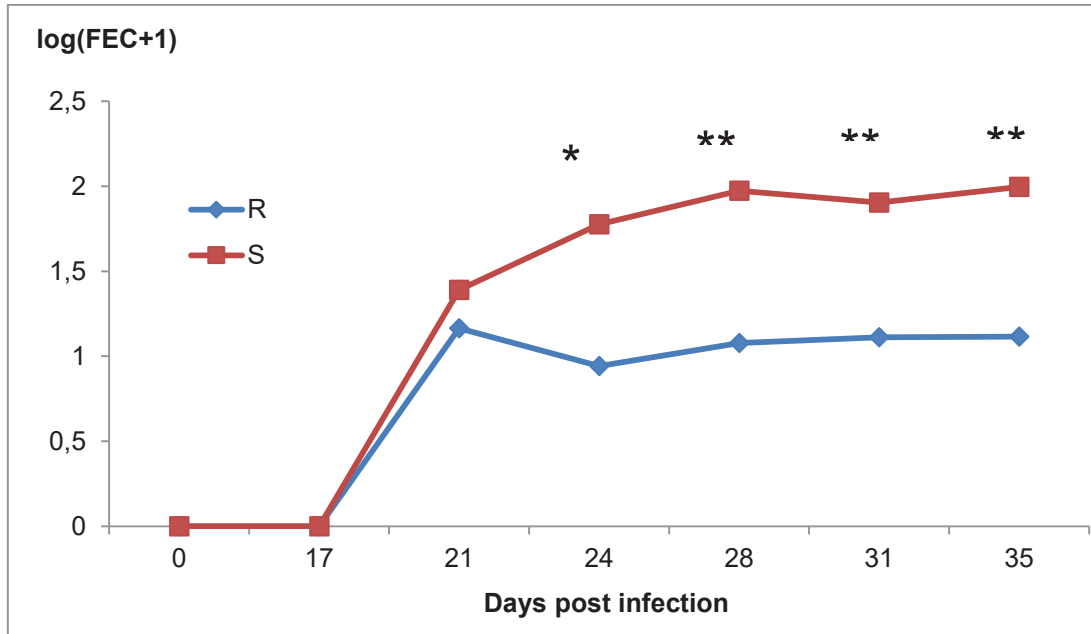
4: increased FEC associated to increased BW gain

**Figure 2: Distribution per line of the 91 female lambs for FEC measured at day 35**

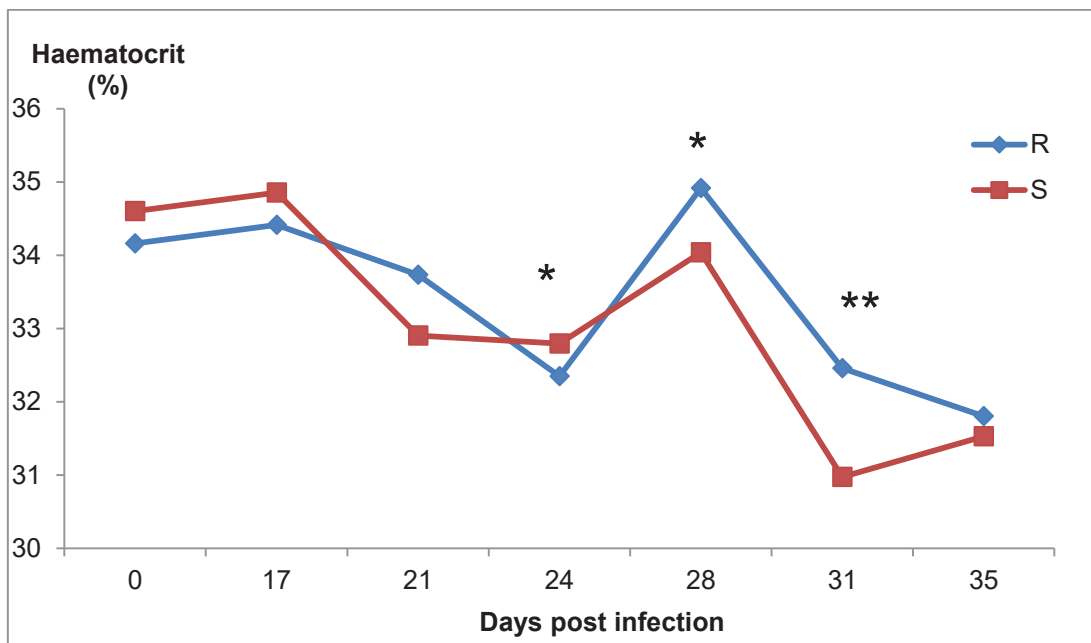


**Figure 3: Changes in (i) log-transformed faecal egg count, (ii) haematocrit and (iii) fat thickness during the course of the second infection (n=42 females lambs)**

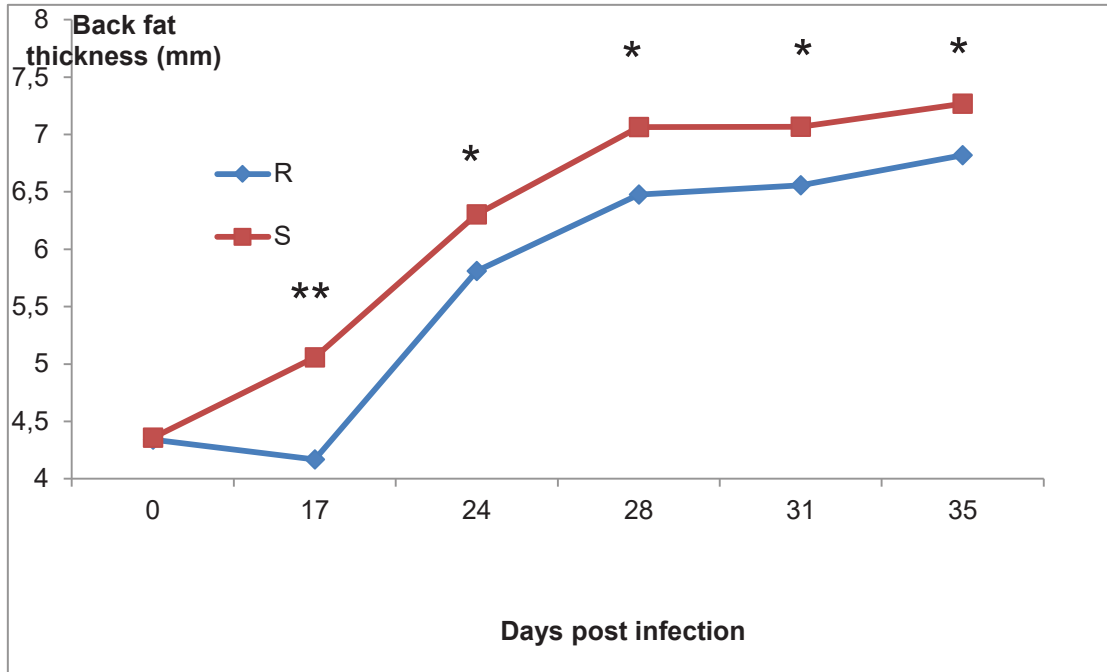
**(i) FEC**



**(ii) Haematocrit**



(iii) Back fat thickness



\* pvalue < 0.05  
 \*\* pvalue < 0.005



## *Discussion générale*

---

### **1. Vers une meilleure compréhension du lien entre résistance aux strongles gastro-intestinaux et les autres fonctions biologiques**

#### **1.1. Confirmation de l'existence de compromis entre fonction immunitaire et les autres fonctions biologiques**

La réponse immunitaire est souvent associée à un coût, notamment un coût nutritionnel. Elle peut donc entrer en compétition avec les autres fonctions biologiques de l'hôte : croissance, reproduction, production. Ces compromis peuvent être d'autant plus forts que les ressources alimentaires sont limitées, ce qui peut être le cas notamment pour les ovins élevés au pâturage.

Coop and Kyriazakis (1999) ont proposé les ordres de priorité suivants pour les différentes fonctions biologiques:

- chez un animal en croissance en phase d'acquisition de l'immunité :  
(1) maintenance des réserves protéiques, (2) acquisition de l'immunité, (3) gain de protéines et (4) maintenance et gain de réserves lipidiques
- chez un animal en croissance en phase d'expression de l'immunité :  
(1) maintenance des réserves protéiques, (2) gain de protéines, (3) expression de l'immunité et (4) maintenance et gain de réserves lipidiques
- chez un animal en reproduction :  
(1) maintenance des réserves protéiques, (2) reproduction (gestation puis lactation), (3) expression de l'immunité et (4) atteinte d'un état corporel satisfaisant.

Ainsi l'ordre de priorité des différentes fonctions varie au cours de la carrière de l'animal en fonction de son âge et de son statut physiologique notamment.

Une partie de mes travaux (Etude 4) a porté sur l'étude de ces compromis entre fonctions chez des agnelles en croissance. Des échographies dorsales ont été réalisées en cinétique sur une période de 35 jours après infestation pour mesurer l'impact de la sélection sur le dépôt de gras et de muscle. Nos résultats suggèrent que, dans sa phase précoce, la réponse immunitaire pourrait être associée à un

moindre dépôt de gras chez les individus génétiquement sélectionnés pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux. Cela semble cohérent avec l'ordre de priorité proposé par Coop and Kyriazakis (1999) pour un animal en croissance lors de l'acquisition de l'immunité.

Ces résultats constituent une première étape dans la mise en évidence d'un potentiel compromis entre immunité et croissance. De nouveaux protocoles pourront être réalisés à l'avenir afin de compléter nos observations.

D'une part, un suivi sur un temps plus long après infestation d'animaux en croissance permettrait de mesurer les impacts sur l'épaisseur de muscle et sur le poids qui peuvent apparaître plus tardivement. De plus, il serait également intéressant de réaliser des échographies dorsales sur les animaux de lignées résistantes ou sensibles non infestés afin de confirmer l'absence de lien entre résistance aux SGI et capacités de croissance en dehors des périodes d'infestation.

D'autre part, les femelles en *peripartum* sont aussi particulièrement sensibles aux nématodes gastro-intestinaux du fait d'une chute de l'immunité qui se traduit par un pic d'excrétion d'œufs dans les fèces. Durant cette période, les femelles doivent faire face à une forte augmentation de leurs besoins pour assurer les fonctions de gestation et de lactation alors que leur capacité d'ingestion diminue en fin de gestation (Kahn et al., 1999). Le *peripartum* représente donc une autre période d'intérêt pour l'étude des compromis l'immunité et les autres fonctions biologiques.

En outre, plusieurs indicateurs peuvent être utilisés pour suivre l'évolution de la composition corporelle des animaux. Pour une première approche, nous avons fait le choix de réaliser des mesures de poids et des échographies dorsales qui sont des méthodes non invasives et présentent l'avantage d'être plus précises et objectives que l'attribution d'une note d'état corporel (Schröder and Staufenbiel, 2006). D'autres indicateurs plus fins permettraient de compléter nos observations. Par exemple, les acides gras non estérifiés (AGNE), le  $\beta$  hydroxy butyrate (BHB) et la triiodothyronine (T3) ont été utilisés dans des études portant sur le suivi du statut énergétique de brebis laitières (González-García et al., 2015 ; Bouvier-Muller et al., 2016). La mobilisation de triglycérides présents dans les tissus adipeux entraîne une augmentation des AGNE dont l'oxydation incomplète donne des corps cétoniques dont le BHB. Les concentrations en AGNE et BHB sont ainsi corrélées négativement au bilan énergétique de l'animal tandis que la concentration en T3 est positivement corrélée au bilan énergétique (Reist et al., 2002). La masse musculaire peut être estimée à partir de la concentration en créatinine dans le sang ou les urines (Costa e Silva et al., 2014). Le dosage de ces marqueurs métaboliques pourrait être réalisé afin de caractériser plus finement la composition corporelle des animaux résistants et sensibles.

Enfin, il serait intéressant de réaliser des mesures chez les races laitières en période de *peripartum*. En effet, les brebis de race laitière doivent faire face à une demande en nutriments très importante en fin de gestation et jusqu'au pic de lactation. Le compromis entre les fonctions pourrait donc être plus marqué chez les races laitières que chez les races allaitantes. De plus, des résultats suggèrent que la distribution des réserves corporelles diffère entre les races laitières et les races allaitantes (Taylor et al., 1989). Il est donc possible que les compromis entre la fonction immunitaire et les autres fonctions biologiques soient différents ou plus marqués chez les races laitières que chez les races allaitantes.

## 1.2. Etudes en ferme

De nombreuses données sont collectées en ferme dans le cadre du contrôle de performances (reproduction : fertilité à l'IA, prolificité, mortalité des agneaux ; croissance des agneaux avec des pesées à 30 et 70 jours ; données du contrôle laitier pour les races laitières : quantité de lait, quantité de matières, taux butyreux, taux protéique et comptage de cellules somatiques). Ces données associées à des mesures d'hématocrite et d'intensité d'excrétion d'œufs pourraient contribuer à améliorer notre compréhension des compromis entre les différentes fonctions biologiques des animaux et à valider sur le terrain les résultats obtenus expérimentalement.

Cela permettrait de tester la validité de nos hypothèses dans des environnements variés (conduite du troupeau, gestion des pâtures, niveau de contamination des pâtures etc...). De plus, nous n'avons utilisé pour notre protocole d'infestation expérimentale que le parasite *H. contortus* qui est le parasite le plus pathogène pour les animaux. Il serait intéressant de mener des études en conditions d'infestation naturelle et donc multi-espèces. Enfin, notre étude sur les compromis entre fonctions a été menée sur des agnelles nourries *ad libitum*. Or les animaux peuvent être confrontés à des ressources herbagères limitées lorsqu'ils sont élevés au pâturage. On peut donc penser que les compromis entre les fonctions de production et la fonction immunitaire seraient plus marqués dans ces conditions.

Des études en ferme pourraient aussi être menées pour tenter de mieux évaluer les conséquences de la sélection pour la résistance au parasitisme sur la résistance à d'autres maladies, notamment les cryptosporidies et les coccidies qui représentent un sérieux problème sanitaire chez les agneaux et les mammites chez les brebis adultes.

La collecte de ces données constitue une étape préliminaire à la mise au point et à l'amélioration de modèles prédictifs qui pourraient à terme être utilisés en élevage pour conseiller l'éleveur sur les stratégies de contrôle des SGI à mettre en place au sein de son exploitation (Saccareau et al., 2016).

## **2. Quelles sont les prochaines étapes pour l'intégration de la résistance aux strongles gastro-intestinaux dans les schémas de sélection ?**

### **2.1. Comment inclure la résistance aux strongles gastro-intestinaux dans le schéma de sélection de la race Manech Tête Rousse ?**

La mise en place de la sélection passe par trois étapes essentielles : choisir le ou les caractères que l'on veut améliorer (objectif de sélection), choisir le critère de sélection, choisir les poids de chaque caractère dans l'index de sélection (Stear et al. 2006 ; Nicholas, 1987).

#### **2.1.1. Objectif de sélection**

Dans le domaine de l'étude de la résistance génétique de l'hôte aux maladies en élevage, l'expression « résistance aux maladies » désigne en réalité deux notions : la résistance et la résilience. La résistance correspond à la capacité de l'hôte à exercer un contrôle sur le cycle de vie du parasite ou du pathogène. Sélectionner pour la résistance à un parasite ou à un pathogène va donc permettre de réduire les risques de transmission au sein du troupeau. Il peut parfois être plus intéressant de sélectionner les animaux pour une meilleure résilience c'est-à-dire sur leur capacité à maintenir leur productivité malgré l'infestation. Cependant, cela ne permet pas de contrôler la population du pathogène.

Dans le cas des infestations par les parasites gastro-intestinaux, la sélection pour la résistance présente un avantage majeur puisqu'elle permet une protection globale du troupeau. La résistance d'un animal se traduira par sa capacité à contrôler l'installation des larves et donc sa charge parasitaire ainsi que la fécondité des adultes femelles. Or ces deux facteurs sont déterminants pour l'intensité d'excrétion d'œufs de chaque animal. Les animaux résistants vont donc participer à la réduction du niveau de contamination de la pâture en ingérant une partie des larves infestantes et en excréant peu ou pas d'œufs dans la pâture. La présence d'animaux résistants va ainsi bénéficier à l'ensemble du troupeau puisqu'elle permet de réduire le challenge parasitaire auquel l'ensemble du troupeau doit faire face (Bishop, 2012). Ceci a été vérifié expérimentalement par Gruner et al. (2002). Deux troupeaux ont été sélectionnés pour un nombre élevé ou un nombre faible d'œufs excrétés dans les fèces après avoir reçu 12000 larves infestantes de *T. circumcincta* puis 8000 larves de *T. colubriformis*. Les deux troupeaux ont pâture des parcelles différentes pendant 4 ans. Les auteurs ont

comparé l'excrétion d'œufs et le niveau de contamination de la parcelle des agneaux résistants à ceux des agneaux sensibles. Ils ont observé chez les agneaux résistants une excrétion d'œufs 50% inférieure pour l'espèce *T. circumcincta* et 75% inférieure pour l'espèce *T. colubriformis* à celles des agneaux sensibles. De plus, la population de stades libres de *T. circumcincta* dans la parcelle a diminué de 25% par an. Pour *T. colubriformis*, elle a diminué de 99% en deux ans. Cela a résulté en une charge parasitaire réduite de 50% et 99% des espèces *T. circumcincta* et *T. colubriformis* respectivement.

Ces observations réalisées sur des animaux sélectionnés pour leur résistance ou leur sensibilité aux parasites permettent d'observer des écarts très importants de contamination des pâtures en 4 ans seulement. En pratique, la réduction de la contamination de la pâture en élevage sera certainement plus lente puisque des animaux ayant des capacités de résistance variables pâtureront les mêmes parcelles.

## **2.1.2. Comment évaluer les béliers candidats à la sélection ?**

### **2.1.2.1. Protocole de phénotypage**

Dans les pays où la sélection pour la résistance au parasitisme a été mise en place, la sélection est réalisée à partir de la mesure de l'excrétion d'œufs par les descendants des béliers reproducteurs en ferme en conditions d'infestation naturelle.

En France métropolitaine, le phénotypage en conditions naturelles est difficilement envisageable. Les niveaux de contamination des pâtures sont trop fluctuants d'une saison à l'autre et d'une année à l'autre du fait des variations des conditions météorologiques. Un protocole permettant de phénotyper les animaux en conditions d'infestation expérimentale a donc été développé. On peut ainsi s'assurer que tous les animaux ingèrent la même dose de larves infestantes.

De plus, les corrélations génétiques proches de 1 entre résistance en conditions naturelles et expérimentales et résistance à différentes espèces de strongles gastro-intestinaux publiées par Gruner et al. (2004a et 2004b) laissaient penser que ce protocole permettrait une sélection efficace pour la résistance aux SGI quelles que soient les espèces présentes dans les pâtures. Cela a pu être confirmé chez la race Manech Tête Rousse en élevage au cours de cette thèse (voir Etude 1).

Evaluer les béliers sur la base des phénotypes de leurs descendants permet de ne réaliser qu'un prélèvement par animal. Cependant un certain nombre de descendants sont nécessaires pour obtenir une estimation fiable de la valeur génétique du bélier. Compte tenu de la lourdeur du protocole, il n'était pas envisageable de phénotyper un grand nombre d'animaux en ferme. En effet, la mise en

œuvre de ce protocole nécessite une logistique importante pour le maintien de la souche « Humeau » en laboratoire, la production des larves, la réalisation des infestations, des prélèvements d'échantillons sanguins et fécaux et des analyses en laboratoire.

Le choix a donc été fait de cibler les béliers candidats à la sélection. Ces béliers n'ont jamais été en contact avec des SGI car ils n'ont jamais pâturé. La gestion collective de ces mâles dans le cadre du schéma de sélection facilite la réalisation du protocole. Tous les béliers candidats à la sélection sont regroupés et élevés en centre de testage. Cela permet de réaliser le protocole sur l'ensemble des béliers au même moment et dans des conditions environnementales comparables. De plus, cela permet de diffuser efficacement le progrès génétique à l'ensemble de la population grâce à l'IA.

Il faut noter toutefois que la réalisation de ce protocole prend du temps puisqu'il faut prévoir une période de deux mois et demi pour réaliser les deux infestations. Il peut être difficile de l'intégrer dans le processus de sélection des jeunes béliers surtout en races allaitantes.

### **2.1.2.2. Choix du critère de sélection**

De nombreux caractères peuvent être utilisés pour mesurer l'impact d'une infestation par des parasites gastro-intestinaux chez les ruminants. Bishop (2012) les a classés en quatre catégories : (i) des mesures de résistance : OPG, charge parasitaire, taille et fécondité des vers adultes ; (ii) marqueurs de la réponse immunitaire : éosinophiles et anticorps ; (iii) mesures de l'impact de l'infection : anémie évaluée avec l'hématocrite ou la couleur des muqueuses oculaires, pepsinogène produit en réponse aux lésions de la muqueuse digestive et (iv) mesures de résilience en suivant des caractères de production.

Les deux caractères choisis pour le protocole d'infestation expérimentale en station de contrôle sont l'hématocrite et les OPG.

D'une part, l'hématocrite permet de mesurer la capacité de l'animal à maintenir ses constantes biologiques. Il représente donc un indicateur de la résilience et de bien-être des individus.

D'autre part, les intensités d'excrétion d'œufs sont le caractère le plus classiquement utilisé pour mesurer la résistance aux nématodes gastro-intestinaux (Bishop, 2012). Ils sont généralement bien corrélés au nombre de vers adultes présents dans l'hôte. Roberts et Swan (1981) rapporte une corrélation de 0,83 entre les OPG et le nombre de vers adultes pour *H. contortus*. Les OPG représentent donc un bon indicateur, bien qu'indirect, de la charge parasitaire et de la fécondité des femelles qu'il n'est pas envisageable de mesurer sur les béliers candidats puisqu'elles nécessitent l'abattage de l'animal.

De plus, ce caractère présente une variabilité interindividuelle importante avec des mesures comprises

entre 0 et plusieurs dizaines de milliers d'œufs excrétés dans les fèces ainsi qu'une héritabilité modérée (estimations comprises entre 0,14 et 0,35 rapportées dans l'étude 1). On peut donc espérer qu'un progrès génétique assez important puisse être réalisé sur ce caractère.

L'estimation des paramètres génétiques pour les OPG en première et deuxième infestation a permis de montrer que les deux mesures d'OPG sont très fortement corrélées (corrélation génétique de 0,92) et que la mesure en fin de deuxième infestation est plus fortement héritable (héritabilités de 0,14 et 0,35 en fin de première et de deuxième infestation respectivement). On pourrait donc envisager de se limiter à la mesure à la fin de la deuxième infestation pour limiter le coût du protocole et la charge de travail liée à sa réalisation.

### **2.1.3. Comment diffuser le progrès génétique ?**

Plusieurs stratégies sont envisageables pour assurer la diffusion du progrès génétique.

Une première possibilité est de réaliser une pré-sélection des béliers en fonction de leur valeur génétique pour la résistance aux SGI. Cela est déjà réalisé en Manech Tête Rousse puisque les béliers génétiquement sensibles, et donc *a priori* forts excréteurs, sont écartés d'emblée. Cependant, ces béliers peuvent présenter un fort potentiel génétique pour les caractères de production laitière et être intéressants pour progresser sur d'autres caractères. On peut alors préférer travailler sur l'index de sélection en calculant un index spécifique à la résistance au parasitisme ou en incluant l'intensité d'excrétion d'œufs dans l'ISOL. Si la deuxième option est choisie, de nouvelles pondérations devront être attribuées aux caractères en sélection en fonction des corrélations entre les caractères qui ont été calculées dans le cadre de cette thèse (Etude 2), du poids économique de chaque caractère et du progrès génétique que l'organisme de sélection souhaite réaliser.

La solution choisie par l'OS Manech Tête Rousse sera vraisemblablement à terme une combinaison de ces deux possibilités avec une élimination des béliers extrêmement sensibles quel que soit leur potentiel génétique de production laitière à l'entrée en station et la mise en place d'une sélection polygénique classique avec l'inclusion de la résistance aux SGI dans l'ISOL.

Il pourrait aussi être envisagé d'utiliser les béliers les plus résistants génétiquement quel que soit leur potentiel génétique pour la production laitière dans les élevages identifiés au préalable comme présentant un caractère d'urgence en termes de résistance aux anthelminthiques. Ces béliers pourraient être diffusés par IA orientées pour une meilleure gestion de la résistance aux SGI. Cela permettrait d'apporter une réponse rapide et de réduire la pression de sélection exercée par l'usage massif des

anthelminthiques sur les populations de parasite. La sélection classique permettrait en parallèle d'améliorer l'ensemble de la population sur un temps plus long.

## **2.2. Opportunités dans les autres races laitières et les races allaitantes**

L'universalité d'une variabilité intra race sous déterminisme génétique est bien établie (Bishop and Morris, 2007). La sélection génétique pour la résistance au parasitisme est donc possible pour d'autres races que la Manech Tête Rousse. D'autres races françaises souhaitent d'ailleurs inclure la résistance aux SGI dans leurs objectifs de sélection et se sont engagées dans le phénotypage de leurs béliers candidats à la sélection grâce au protocole d'infestation expérimentale. C'est notamment le cas de la Basco-Béarnaise en races laitières et des races Blanche du Massif Central, Romane, Charmoise, Rouge de l'Ouest et Causse du lot en races allaitantes.

Nous avons montré que les corrélations génétiques estimées entre la résistance au parasitisme et les caractères de production laitière étaient défavorables (Etude 2). Il est donc important de prendre en compte la résistance au parasitisme dans la sélection afin d'éviter que la résistance aux SGI ne se dégrade. Les valeurs de ces corrélations sont généralement faibles donc cette sélection peut se faire sans effet détériorateur majeur sur les caractères déjà en sélection. Il faudra néanmoins estimer ces corrélations afin de conseiller au mieux les éleveurs et les organismes de sélection sur la pondération à attribuer à chaque caractère.

Enfin, une réflexion devra être menée sur l'utilisation des béliers. L'IA permet de diffuser plus rapidement le progrès génétique que la monte naturelle tout en limitant les risques d'augmentation de la consanguinité. Il est probable que des stratégies de diffusion différentes soient mise en place en fonction de la place de l'IA et de la monte naturelle dans les schémas de sélection.



### **3. Quel rôle pour la sélection génétique dans la gestion intégrée du parasitisme gastro-intestinal ?**

Le développement de résistances aux anthelminthiques chez les principales espèces de SGI dans toutes les régions d'élevage ovin du monde a conduit à la nécessité de mettre en place de nouveaux modes de gestion du parasitisme. Cela s'accompagne aussi d'un changement d'objectif : on va chercher à trouver un équilibre entre hôtes et parasites plutôt qu'à éliminer totalement ces derniers (Hoste et al., 2010). Nous verrons dans cette partie quelle place la sélection pour la résistance peut occuper dans la gestion intégrée du parasitisme puis comment l'associer à d'autres stratégies de contrôle.

#### **3.1. Intérêts de la sélection pour la résistance dans la gestion intégrée du parasitisme gastro-intestinal**

La sélection pour la résistance aux nématodes gastro-intestinaux présente un double avantage puisqu'elle permet de réduire la sensibilité des individus aux infestations par les SGI ainsi que l'exposition des animaux à ces parasites (Bisset al., 1997).

En éliminant des troupeaux les animaux qui sont les plus forts excréteurs d'œufs de parasites au pâturage et en améliorant la résistance des populations ovines, on peut s'attendre à une baisse importante de la contamination des pâtures et donc du challenge parasitaire auquel sont confrontés les animaux. Ceci devrait permettre une réduction de la fréquence des traitements. On peut donc espérer d'une part des économies pour l'éleveur sur l'achat des traitements anthelminthiques et sur la charge de travail nécessaire au suivi du troupeau et à l'administration des traitements. D'autre part, la mise en place de la sélection devrait conduire à une réduction de la pression de sélection exercée sur les populations de nématodes gastro-intestinaux par l'usage massif des traitements et donc contribuer à préserver l'efficacité des molécules disponibles.

De plus, la sélection génétique pour une meilleure résistance de l'hôte aux SGI présente un avantage majeur par rapport aux autres stratégies de contrôle : elle ne demande pas de travail supplémentaire à l'éleveur. La gestion des infestations par les SGI serait en partie prise en charge collectivement dans le cadre du schéma de sélection et ne serait plus uniquement à la charge de l'éleveur. Cet aspect peut être particulièrement intéressant dans les bassins de production ovine où les troupeaux peuvent se croiser. C'est par exemple le cas sur la chaîne pyrénéenne où il est courant que les troupeaux pâturent des

terrains communaux ou se croisent en estives. En effet, dans ce contexte les risques de contamination et de transmission de SGI résistants aux anthelminthiques entre troupeaux sont élevés (Cazajous et al., 2018). Une amélioration globale de la résistance aux SGI des troupeaux et une gestion des infestations par les SGI moins dépendante des traitements anthelminthiques permettrait de limiter ces risques.

### **3.2. Limites potentielles de la sélection génétique pour la résistance aux strongles gastro-intestinaux**

#### **3.2.1. Un impact sur la résistance aux autres agents pathogènes ?**

Les travaux menés dans cette thèse se sont concentrés sur la résistance aux strongles gastro-intestinaux. Or en élevage les animaux sont exposés à de nombreux autres agents pathogènes.

Face à un agent pathogène, les hôtes peuvent faire appel à plusieurs voies de la réponse immunitaire. Ainsi, la réponse immunitaire mise en place en réponse à une infestation par des SGI est de type Th2 alors que la réponse à une infection par des bactéries ou des virus est de type Th1 (Lacroux, 2006). On peut alors se demander si l'amélioration de la résistance aux SGI ne risque pas de favoriser l'un des types de réponse et conduire à une sensibilité plus élevée des animaux à d'autres agents pathogènes. Nous avons pu montrer qu'il existe un lien génétique défavorable entre résistance aux SGI et aux mammites (Etude 2). Ce type d'investigation pourrait être réalisé pour d'autres pathologies. Il pourrait également être envisagé d'évaluer la résistance à divers agents pathogènes des animaux issus des lignées divergentes.

#### **3.2.2. Un risque de contournement de la résistance génétique par les strongles ?**

Une autre limite potentielle est le risque de contournement de la résistance génétique de l'hôte par les parasites. Les strongles nématodes gastro-intestinaux présentent une fréquence de mutation rapide (Kemper et al., 2009). On pourrait donc craindre qu'ils ne s'adaptent à la résistance des moutons comme ils ont su s'adapter aux traitements anthelminthiques.

Cependant, les nombreuses études portant sur le déterminisme génétique de la résistance n'ont pu mettre en évidence aucun gène à effet majeur. Le déterminisme génétique de la résistance serait donc

polygénique, c'est-à-dire que de nombreux gènes ayant chacun un effet faible seraient impliqués dans la résistance aux parasites. C'est aussi ce qui a été mis en évidence chez la race Manech Tête Rousse au cours de cette thèse (Etude 3). Il sera donc bien plus difficile pour les parasites de contourner la résistance génétique que si elle ne reposait que sur un petit nombre de gènes. En effet il est peu probable que les nématodes réussissent à s'adapter aux différents mécanismes de résistance mis en jeu. Des études menées sur le sujet viennent confirmer ce raisonnement. Le risque de contournement a fait l'objet de plusieurs publications mais aucune n'a pu mettre en évidence une adaptation des espèces *H. contortus* et *T. colubriformis* à des ovins sélectionnés pour la résistance.

Kemper et al. (2009) ont rapporté que, suite au passage de 30 générations de nématodes des espèces *H. contortus* et *T. colubriformis* au sein d'hôte sélectionnés pour leur résistance ou leur sensibilité à *H. contortus*, aucune adaptation des parasites au génotype de l'hôte n'a pu être mise en évidence. Des résultats similaires ont été obtenus en race Martinik Black Belly (Saulai et al., 2001). Cela a également été validé par des approches de modélisation (Kemper et al. 2010).

En outre, l'objectif de la sélection pour la résistance devra être d'atteindre un équilibre entre hôtes et parasites. Cela signifie que l'on va chercher à maintenir la population parasitaire sous un certain seuil mais sans chercher à l'éliminer totalement. De plus, la sélection génétique ne sera pas l'unique levier pour le contrôle des nématodes gastro-intestinaux mais sera utilisée en complément d'autres stratégies de lutte. Cela devrait permettre de limiter la pression de sélection exercée sur la population parasitaire et donc limiter le risque de contournement.

Pour conclure, l'ensemble de ces éléments permet de penser que la sélection des ovins pour la résistance aux nématodes sera une stratégie de lutte durable à moyen et long terme.

### **3.3. Comment combiner les différentes stratégies ?**

Plusieurs stratégies peuvent être associées à un usage raisonné des anthelminthiques pour assurer un contrôle durable des infestations parasitaires chez les ovins. On compte parmi les stratégies les plus prometteuses la sélection génétique et l'utilisation de plantes à tanins. La gestion du pâturage permet également de maîtriser l'exposition des animaux aux parasites. Elle peut être cependant difficile à mettre en place en élevage lorsque les surfaces herbagères sont limitées, comme cela peut être le cas sur la chaîne pyrénéenne.

Des travaux complémentaires devront être menés afin de tester différentes combinaisons et de mesurer les effets qui peuvent être attendus de l'usage combiné de ces stratégies.

Des approches de modélisation peuvent permettre de tester un grand nombre d'options. On pourra pour cela s'appuyer sur nos résultats permettant d'appréhender l'évolution de *H. contortus* chez les hôtes sensibles et résistants (Etude 4), sur les cas-types réalisés par l'Institut de l'élevage qui décrivent les systèmes de production (taille des exploitations, ateliers de production, conduite des troupeaux, système fourrager etc...) et sur les résultats d'une enquête menée dans les Pyrénées-Atlantiques auprès des éleveurs pour mieux connaître les pratiques en matière de gestion du parasitisme. Un modèle faisant appel à ces informations est en cours de développement au sein de l'équipe GesPR de l'INRA de Toulouse (Saccareau et al., 2016). Les données collectées dans le cadre de mes travaux (Etude 4) permettront d'améliorer la modélisation du cycle de vie du parasite *H. contortus* au sein de l'hôte.

A terme, il sera possible de modéliser des situations les plus proches possibles de celles existantes en ferme. Des propositions de stratégies de contrôle adaptées aux modes de production pourront ainsi être faites aux éleveurs. Ces approches permettront également de quantifier les bénéfices qui peuvent être attendus de la sélection et de la combinaison de la sélection et d'autres stratégies de sélection.

Des études en ferme seront également menées, notamment dans le cadre du projet Nouvelle-Aquitaine « Paralut ». Ce projet a pour objectif de tester conjointement l'utilisation d'aliments riches en tanins et la sélection pour la résistance génétique comme méthodes de contrôle des SGI afin de limiter le recours aux anthelminthiques. Des mesures seront collectées sur le terrain afin d'évaluer les effets de la sélection génétique, de l'ajout de concentrés riches en tanins condensés dans la ration et de la combinaison de ces deux stratégies.

## **Conclusion**

---

Les cas de résistance aux anthelminthiques sont de plus en plus importants en termes de prévalence et de répartition géographique. La sélection génétique est l'un des leviers qui permettront une gestion plus durable des infestations gastro-intestinales chez les ruminants à l'avenir.

Le choix stratégique de réaliser la sélection à partir des performances propres en infestation expérimentale des béliers candidats à la sélection mesurées en station de contrôle a été fait afin de profiter de l'organisation collective des schémas de sélection.

Mes travaux de thèse avaient un double objectif : (i) évaluer la faisabilité de la sélection génétique sur la base des performances des béliers candidats au protocole d'infestation expérimentale et (ii) évaluer les impacts que la sélection pourrait avoir à long terme sur les fonctions biologiques d'intérêt en élevage afin de conseiller au mieux les éleveurs et les organismes de sélection.

Dans un premier temps, nous avons démontré l'efficacité de la sélection. Des corrélations génétiques comprises entre 0.56 et 0.71 ont été estimées entre les caractères de résistance mesurés chez les béliers et chez leurs descendantes en ferme. Cela nous a permis de valider l'efficacité du protocole d'infestation expérimentale utilisé en station de contrôle afin d'évaluer les béliers candidats à la sélection pour améliorer la résistance au parasitisme des troupeaux en conditions d'infestation naturelle. De plus, les deux mesures d'excrétion d'œufs (OPG) réalisées au cours du protocole d'infestation expérimentale étant très fortement corrélées et l'héritabilité des OPG en fin de deuxième infestation étant plus élevée que celle des OPG en fin de première infestation, il peut être envisagé de se limiter à la mesure des OPG en fin de deuxième infestation. Cela permettrait de réduire la lourdeur du protocole et les coûts du phénotypage.

Nous avons ensuite étudié les liens entre les caractères de résistance au parasitisme et les caractères de production laitière. Des corrélations génétiques défavorables mais faibles ont été estimées entre ces caractères. Cela souligne l'importance d'inclure la résistance aux nématodes gastro-intestinaux dans la sélection des petits ruminants afin que ces corrélations ne se dégradent pas davantage.

Une détection de QTL a confirmé le caractère polygénique de la résistance aux nématodes gastro-intestinaux. Nous n'avons pas détecté de régions communes au déterminisme de la résistance aux

nématodes gastro-intestinaux et des caractères laitiers, à l'exception d'une région qui pourrait être impliquée dans le déterminisme de la résistance et de la composition du lait en matières grasses.

Enfin, l'étude des impacts sur le long terme de la sélection pour la résistance aux nématodes gastro-intestinaux a permis de montrer qu'une très forte réduction d'excrétion d'œufs dans la pâture peut être réalisée grâce à la sélection génétique. On peut donc s'attendre à ce que la mise en œuvre de cette sélection permette de diminuer significativement le niveau de contamination des pâtures et donc l'exposition des animaux aux parasites gastro-intestinaux.

De plus, les résultats obtenus lors de cette étude semblent indiquer un coût énergétique de la réponse immunitaire plus important chez les animaux de la lignée résistante que chez les animaux de la lignée sensible. Néanmoins nos observations ont été réalisées au cours des cinq premières semaines suivant l'infestation seulement. De nouvelles investigations devront être menées afin d'étudier le coût de la réponse à une infestation sur un temps plus long après infestation. Enfin, cette étude s'est concentrée sur des animaux en croissance. Il sera nécessaire d'étudier ces compromis à d'autres stades physiologiques.

## Références bibliographiques

---

Astruc J.M., Baloché G., Buisson D., Labatut J., Lagriffoul G., Larroque H., Robert-Granié C., Legarra A., Barillet F. La sélection génomique des ovins laitiers en France. *INRA Productions Animales*. 2016;29(1):41-56.

Assis R.C.L., Luns F.D., Araújo J.V., Braga F.R., Assis R.L., Marcelino J.L., Freitas P.C., Andrade M.A.S. Comparison between the action of nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* in the biological control of bovine gastrointestinal nematodiasis in tropical southeastern Brazil. *Veterinary parasitology*. 2013;193(1-3):134-40.

Athanasiadou S., Kyriazakis I., Jackson F., Coop R.L. Effects of short-term exposure to condensed tannins on adult *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Record*. 2000;146:728-32.

Bahuaud D., Martinez-Ortiz de Montellano C., Chauveau S., Prévot F., Torres-Acosta F., Fouraste I., Hoste H. Effects of four tanniferous plant extracts on the in vitro exsheathment of third-stage larvae of parasitic nematodes. *Parasitology*. 2006;132(4):545-54.

Barry T.N., McNabb W.C. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *British Journal of Nutrition*. 1999;81(4):263-72.

Bartram D.J., Leathwick D.M., Taylor M.A., Geurden T., Maeder S.J. The role of combination anthelmintic formulations in the sustainable control of sheep nematodes. *Vet Parasitol*. 2012;186(3-4):151-8.

Bassetto C.C., Amarante A.F.T. Vaccination of sheep and cattle against haemonchosis. *Journal of Helminthology*. 2015;89(5):517-25.

Beasley A.M., Kahn L.P., Windon R.G. The periparturient relaxation of immunity in Merino ewes infected with *Trichostrongylus colubriformis*: Parasitological and immunological responses. *Veterinary parasitology*. 2010;168(1-2):60-70.

Besier R.B. Refugia-based strategies for sustainable worm control: Factors affecting the acceptability to sheep and goat owners. *Vet Parasitol*. 2012;186:2-9.

Besier B., Kahn L., Dobson R., Smith D. Barbervax -a new strategy for Haemonchus management. In : 'Australian Veterinary Association Conference Brisbane'. 2015.

Beugnet F. and Kerboeuf D. La résistance aux antiparasitaires chez les parasites des ruminants. *Le point vétérinaire*. 1997 ;28 :1949-1956

Bishop S.C. A consideration of resistance and tolerance for ruminant nematode infections. *Front Gene.* 2012;3:168.

Bishop S., Bairden K., McKellar Q., Park M., Stear M. Genetic parameters for faecal egg count following mixed, natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection and relationships with live weight in young lambs. *Animal Science.* 1996;63(3):423-8.

Bishop S.C., Morris C.A. Genetics of disease resistance in sheep and goats. *Small Ruminant Research.* 2007;70(1):48-59.

Bisset S.A., Vlassoff A., West C.J., Morrison L. Epidemiology of nematodosis in Romney lambs selectively bred for resistance or susceptibility to nematode infection. *Vet Parasitol.* 1997;70(4):255-69.

Boag B., Topham P.B., Webster R. Spatial distribution on pasture of infective larvae of the gastrointestinal nematode parasites of sheep. *International Journal for Parasitology.* 1989;19(6):681-5.

Bouvier-Muller J., Allain C., Enjalbert F., Tabouret G., Portes D., Caubet C., Tasca C., Foucras G., Rupp R. Response to dietary-induced energy restriction in dairy sheep divergently selected for resistance or susceptibility to mastitis. *J Dairy Sci.* 2016;99:480-92.

Braga F.R., de Araújo J.V. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2014;98(1):71-82.

Brown M.D., Poppi D.P., Sykes A.R. The effect of post-ruminal infusion of protein or energy on the pathophysiology of *Trichostrongylus colubriformis* infection and body composition in lambs. *Australian Journal of Agricultural Research.* 1991;42(2):253-67.

Brunsdon R.V. The post-parturient rise in the faecal nematode egg count of ewes: some host-parasite relationships. *New Zealand Veterinary Journal.* 1971;19:100-7.

Buisson D., Lagriffoul G., Baloché G., Aguerre X., Boulenc P., Fidelle F., Frégeat G., Giral-Viala B., Guibert P., Panis P., Soulas C., Astruc J.M., Barillet F. Genomic breeding schemes in French Lacaune and Manech dairy sheep : design and expected genetic gain. 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production; Vancouver, Canada, 2014

Busin V., Kenyon F., Laing N, Denwood MJ, McBean D, Sargison ND, Ellis K. Addressing sustainable sheep farming: application of a targeted selective treatment approach for anthelmintic use on a commercial farm. *Small Ruminant Research.* 2013;110(2-3):100-3.

Cabaret J., Benoit M., Laignel G., Nicourt C. Current management of farms and internal parasites by conventional and organic meat sheep French farmers and acceptance of targeted selective treatments. *Vet Parasitol.* 2009;164(1):21-9.

Cabaret J., Gasnier N., Jacquiet P. Faecal egg counts are representative of digestive-tract strongyle worm burdens in sheep and goats. *Parasite.* 1998;5:137-42.



Campos A.K., Araújo J., Guimarães M.P., Dias A.S. Resistance of different fungal structures of *Duddingtonia flagrans* to the digestive process and predatory ability on larvae of *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* in goat feces. *Parasitology Research*. 2009;105.

Cazajous T., Prévot F., Kerbirou A., Milhes M., Grisez C., Tropee A., Godart C., Aragon A., Jacquiet P. Multiple-resistance to ivermectin and benzimidazole of a *Haemonchus contortus* population in a sheep flock from mainland France, first report. *Veterinary parasitology: Regional Studies and Reports*. 2018;14:103-5.

Cériac S., Archimède H., Feuillet D., Félicité Y., Giorgi M., Bambou JC. Supplementation with rumen-protected proteins induces resistance to *Haemonchus contortus* in goats. *Scientific Reports*. 2019;9 Article number: 1237.

Charlier J., Thamsborg S.M., Bartley D.J., Skuce P.J., Kenyon F., Geurden T., Hoste H., Williams A.R., Sotiraki S., Höglund J., Chartier C., Geldhof P., van Dijk J., Rinaldi L., Morgan E.R., von Samson-Himmelstjerna G., Vercruysse J., Claerebout E. Mind the gaps in research on the control of gastrointestinal nematodes of farmed ruminants and pigs. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2017;65(51):217-34.

Chartier C., Pors I., Hubert J., Rocheteau D., Benoit, C., Bernard, N. Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France. *Small Ruminant Research*. 1998;29:33-41.

Chartier C., Pors I. Effect of the nematophagous fungus, *Duddingtonia flagrans*, on the larval development of goat parasitic nematodes: a plot study. *VetRes*. 2003;34:221-30.

Cintra M.C.R, Ollhoff R.D., Santos Sotomaior C. Sensitivity and specificity of the FAMACHA system in growing lambs. *Vet Parasitol*. 2018;251(15):106-11.

Clark R., Kupper T. Old meets new: the interaction between innate and adaptive immunity. *Journal of Investigative Dermatology*. 2005;125:629-37.

Colditz I.G., Watson D.L., Gray G.D., Eady S.J. Some relationships between age, immune responsiveness and resistance to parasites in ruminants. *International Journal for Parasitology*. 1996;26(8-9):869-77.

Coles G.C., Bauer C., Borgsteede F.H.M., Geerts S., Klei T.R., Taylor M.A., Waller P.J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol*. 1992;44:35-44.

Colvin A.F., Walkden-Brown S.W., Knox M.R., Scott J.M. Intensive rotational grazing assists control of gastrointestinal nematodosis of sheep in a cool temperate environment with summer-dominant rainfall. *Vet Parasitol*. 2008;153:108-20.

Coop R.L., Holmes P.H. Nutrition and parasite interaction. *International Journal for Parasitology*. 1996;26(8-9):951-62.

Coop R.L., Kyriazakis I. Nutrition-parasite interaction. *Veterinary parasitology*. 1999;84(3-4):187-204.

- Coop R.L., Sykes A.R., Angus K.W. The effect of three levels of intake of *Ostertagia circumcincta* larvae on growth rate, food intake and body composition of growing lambs. *The Journal of Agricultural Science*. 1982;98(2):247-55.
- Cooper J., Gordon I.J., Pike A.W. Strategies for the avoidance of faeces by grazing sheep. *Applied Animal Behaviour Science*. 2000;69(1):15-33.
- Cosgrove G.P., Niezen J. Intake and selection for white clover by grazing lambs in response to gastrointestinal parasitism. *Applied Animal Behaviour Science*. 2000;66(1-2):71-85.
- Costa e Silva L.F., Valadares Filho S.C., Chizzotti M.L., Rotta P.P., Zanetti D., Valadares R.D.F., Detmann E. Models to predict muscle tissue and crude protein in beef cattle. *Livestock Science*. 2014;160:186-93.
- Coyne, M.J., Smith, G. and Johnstone, C., 1991. Fecundity of gastrointestinal trichostrongylid nematodes of sheep in the field. *American Journal of Veterinary Research*, 52: 1182–1188.
- da Cruz D.G., Araújo F.B., Molento M.B., DaMatta R.A., de Paula Santos C. Kinetics of capture and infection of infective larvae of trichostrongylides and free-living nematodes *Panagrellus* sp. by *Duddingtonia flagrans*. *Parasitology Research*. 2011;109(4):1085-91.
- De La Chevrotière C., Mmoreno C., Jacquet P., Mandonnet N. La sélection génétique pour la maîtrise des strongyloses gastro-intestinales des petits ruminants. *Productions Animales*. 2011;24(3).
- Dobson R.J. Lejambre L., Gill J.H. Management of anthelmintic resistance: Inheritance of resistance and selection with persistent drugs. *International Journal for Parasitology*. 1996;26(8-9):993-1000.
- Doeschl-Wilson A.B., Vagenas D., Kyriazakis I., Bishop S.C. Exploring the assumptions underlying genetic variation in host nematode resistance. *Genet Sel Evol*. 2008 2008;40(3):241-64.
- Dominik S. Quantitative trait loci for internal nematode resistance in sheep: a review. *Genet Sel Evol*. [Comparative Study Review]. 2004;37 Suppl 1:S83-96.
- Donald A.D., Waller P.J. Gastro-intestinal nematode parasite populations in ewes and lambs and the origin and time course of infective larval availability in pastures. *International Journal for Parasitology*. 1973;3(2):219-33.
- Douch P.G., Morum P.E. The effect of age on the response of Romney sheep to gastrointestinal nematodes during grazing. *International Journal for Parasitology*. 1993;23:651-5.
- Ducrocq V. Du modèle génétique au modèle statistique. *INRA Productions Animales*. 1992; hors série (Eléments de génétique quantitative et application aux populations animales) : 75-81
- Dunsmore J.D. *Ostertagia* spp. in lambs and pregnant ewes. *J Helminthol*. 1965;39:159-84.

- Faedo M., Larsen M., Thamsborg S. Effect of different times of administration of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on the transmission of ovine parasitic nematodes on pasture — a plot study. *Vet Parasitol.* 2000;94(1-2):55-65.
- Faessler H., Torgerson P.R., Hertzberg H. Failure of *Duddingtonia flagrans* to reduce gastrointestinal nematode infections in dairy ewes. *Vet Parasitol.* 2007;147:96-102.
- Fisher R.A. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. *Trans R Soc Edimbourg.* 1918;52:399-433.
- Floate K.D. WKG, Boxall A.B.A., Sherratt T.N. Fecal residues of veterinary parasiticides: Nontarget effects in the pasture environment. *Annual Review of Entomology.* 2005;50:153-79.
- Fontenot M.E., Miller J.E., Peña M.T., Larsen M., Gillespie A. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. *veterinary parasitology.* 2003;118(3-4):203-13.
- Gaba S., Ginot V., Cabaret J. Modelling macroparasite aggregation using a nematode-sheep system: the Weibull distribution as an alternative to the Negative Binomial distribution? *Parasitology.* 2005;131(3):393-401.
- Gallidis E., Papadopoulos E., Ptochos S., Arsenos G. The use of targeted selective treatments against gastrointestinal nematodes in milking sheep and goats in Greece based on parasitological and performance criteria. *Vet Parasitol.* 2009;164(1):53-8.
- Georges M. Mapping, fine mapping, and molecular dissection of quantitative trait loci in domestic animals. *Annual Review of Genomics and Human Genetics,* 2007; 8, pp. 131--162.
- 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., Bartram D. Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. *Vet Parasitol.* 2014;201:59-66.
- González-García E., Tesniere A., Camous S., Bocquier F., Barillet F., Hassoun P. The effects of parity, litter size, physiological state, and milking frequency on the metabolic profile of Lacaune dairy ewes. *Domestic Animal Endocrinology.* 2015;50:32-44.
- Gronvold J., Henriksen S., Larsen M., Nansen P., Wolstrup J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. *Vet Parasitol.* 1996;64:47-64.
- Gruner L., Bouix J., Brunel J.C. High genetic correlation between resistance to *Haemonchus contortus* and to *Trichostrongylus colubriformis* in INRA 401 sheep. *Veterinary parasitology.* 2004a;119:51-8.
- Gruner L., Bouix J., Vu Tien Khang J., Mandonnet N., Eychenne F., Cortet J., Sauvé C., Limouzin C. A short-term divergent selection for resistance to *Teladorsagia circumcincta* in Romanov sheep using natural or artificial challenge. *Genetics Selection Evolution.* 2004b;36:217-42.

- Gruner L., Cortet J., Sauvé C., Limouzin C., 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. *Vet Parasitol.* 2002;109(3-4):277-91.
- Harrison G.B.L., Pulford H., Gatehouse T.K., Shaw R.J., Pfeffer A., Shoemaker C.B. Studies on the role of mucus and mucosal hypersensitivity reactions during rejection of *Trichostrongylus colubriformis* from the intestine of immune sheep using an experimental challenge model. *International Journal for Parasitology.* 1999;29(3):459-68.
- Harrison G.B.L., Pulford H., Hein W.R., Barber T.K., Shaw R.J., McNeill M., Wakefield St J., Shoemaker C.B. Immune rejection of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep; a possible role for intestinal mucus antibody against an L3-specific surface antigen. *Parasite Immunology.* 2003;25(1):45-53.
- Heckendorn F., Bieber A., Werne S., Saratsis A., Maurer V., Stricker C. The genetic basis for the selection of dairy goats with enhanced resistance to gastrointestinal nematodes. *Parasite.* 2017;24.
- Henderson C.R. Selection index and expected genetic advance. *Statistical Genetics and Plant Breeding*, 1963; 982: 141-163
- Henderson C. R. Sire evaluation and genetic trends. *Journal of Animal Science*, Volume 1973, Issue Symposium, 1973, Pages 10–41
- Henderson C.R. *Application of Linear Models in Animal Breeding.* 1984. Guelph, Edité par University of Guelph
- Henderson C.R., Kempthorne O., Searle S.R., Von Krosigk C.M. The estimation of environmental and genetic trends from records subject to culling. *Biometrics.* 1959;15(2):192-218.
- Hoste H., Cabaret J., Grosmond G., Guitard J.P. Alternatives aux traitements anthelminthiques en élevage biologique des ruminants. *INRA Productions Animales.* 2009;22(3):245-54.
- Hoste H. JF, Athanasiadou S. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology.* 2006;22:253-61.
- Hoste H., Sotiraki S., Landau S.Y., Jackson F., Beveridge I. Goat–Nematode interactions: think differently. *Trends Parasitol.* 2010;26:376-81.
- Houdijk J.G.M., Jessop N.S., Kyriazakis I. Nutrient partitioning between reproductive and immune functions in animals. *Proceedings of the Nutrition Society.* 2001;60:515-25.
- Hutchings M.R., Athanasiadou S., Kyriazakis I., Gordon I.J. Can animals use foraging behaviour to combat parasites ? *Proceedings of the Nutrition Society.* 2003;62(2):361-70.
- Hutchings M.R., Gordon I.J., Kyriazakis I., Robertson E., Jackson F. Grazing in heterogeneous environments: infra- and supra-parasite distributions determine herbivore grazing decisions. *Oecologia.* 2002;132(3):453-60.

- Institut de l'Elevage, CNE. 2019. Les chiffres clés du GEB : Ovin 2019 Productions lait et viande.
- Jabbar A., Iqbal Z., Kerboeuf D., Muhammad G., Khan M.N., Afaq M. Anthelmintic resistance: The state of play revisited. *Life Sciences*. 2006;79:2413-31.
- Jackson F., Coop R. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology*. 2000;120(7):95-107.
- Jacquet P., Alzieu, J.P., Cabaret, J., Vial-Novella, C., Garrain, C., Minery, S., Arranz, J.M., Prévot, F., Bergeaud, J.P., Grisez, C., Cortet, J., Sauvé, C., Dorchies, P., Gruner, L. Epidémiologie comparée en Ariège et dans les Pyrénées-Atlantiques des brebis à l'herbe infestées par les helminthes et par *Oestrus ovis*. *Bulletin des GTV*. 2004;Hors-série parasitologie des ruminants laitiers:303-9.
- Jacquet P., Astruc J.M., Grisez C., Lienard E., Prévot F., François D., Fidelle F., Rives L., Moreno C., Sallé G. La sélection génétique d'ovins résistants aux strongles gastro-intestinaux en France : mythe ou réalité ? *Nouveau Praticien Vétérinaire : Elevages et Santé*. 2015;8(31).
- Jacquet P., Cabaret J., Cheikh D., Thiam E. Identification of *Haemonchus* species in domestic ruminants based on morphometrics of spicules. *Parasitol Res*. 1997;83:82-6.
- Jacquet P., Fidelle F., Lepetitcolin E., Privat S., Gaillac C., Bergeaud J.P., Hoste H. Etat des lieux de la résistance aux anthelminthiques en France chez les ovins. *Le nouveau praticien vétérinaire*. 2014;7(29):16-22.
- Jasmer D.P., Wescott R.B., Crane J.W. Survival of third-stage larvae of Washington isolates of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* exposed to cold temperatures. *Proc Helminthol Soc Wash*. 1987;54(1):48-52.
- Kahn L.P. Knox M.R., Gray G.D. Enhancing immunity to nematode parasites in pregnant and lactating sheep through nutrition and genetic selection. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*. 1999;12:15-22.
- Kaplan R.M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Parasitology*. 2004;20(10).
- Kemper K.E., Elwin R.L., Bishop S.C., Goddard M.E., Woolaston R.R. *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* did not adapt to long-term exposure to sheep that were genetically resistant or susceptible to nematode infections. *International Journal for Parasitology*. 2009;39:607-14.
- Kemper K., Goddard M.E., Bishop S.C. A simple model of worm adaptation to livestock bred for improved worm resistance. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production; Leipzig, Germany, 2010.
- Kenyon F., Greer A.W., Coles G.C., Cringoli G., Papadopoulos E., Cabaret J., Berrag B., Varady M., Van Wyk J.A., Vercruysse J., Jackson F. The role of targeted selective treatments in the development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. *Vet Parasitol*. 2009;164(1):3-11.

- Kenyon F., Jackson F. Targeted flock/herd and individual ruminant treatment approaches. *Veterinary parasitology*. 2012;186(1-2):10-7.
- Kerboeuf D., Riou M. La maîtrise des pompes d'efflux, un progrès dans la lutte contre les nématodes parasites. *Bull Acad Vét France*. 2011;164(3).
- Ketzis J.K., Vercruyse J., Stromberg B.E., Larsen M., Athanasiadou S., Houdijk J.G.M. Evaluation of efficacy expectations for novel and non-chemical helminth control strategies in ruminants. *Vet Parasitol*. 2006;139:321-35.
- Knox M.R., Torres-Acosta J., Aguilar-Caballero A.J. Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on resilience and resistance against gastrointestinal nematodes. *Veterinary parasitology*. 2006;139(4):385-93.
- Kotze A.C., O'Grady G.J., Gough J.M., Pearson R., Bagnall N.H., Kemp D.H., Akhurst R.J. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to parasitic and free-living life-stages of nematode parasites of livestock. *International Journal for Parasitology*. 2005;35(9):1013-22.
- Lacroux C., Nguyen T., Andreoletti O., Prevot F., Grisez C., Bergeaud J.P., Gruner L., Brunel J.C., François D., Dorchie P., Jacquet P. *Haemonchus contortus* (Nematoda:Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Vet Res*. 2006;37:607-22
- Laurenson Y.C.S.M., Kahn L., Bishop S.C., Kyriazakis I. Which is the best phenotypic trait for use in a targeted selective treatment strategy for growing lambs in temperate climates. *Vet Parasitol*. 2016;226:174-88.
- Leyns F., Borgonie G., Arnaut G., de Waele D. Nematicidal activity of *Bacillus thuringiensis* isolates. *Fundam appl Nematol*. 1995;18(3):211-8.
- Lumaret J.P., Errouissi F. Use of anthelmintics in herbivores and evaluation of risks for the non target fauna of pastures. *Vet Res*. 2002;33:547-62.
- Larsen M. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi. *Parasitology*. 2000;120(7):121-31.
- Mahieu M., Arquet R., Kandassamy T., Mandonnet N., Hoste H. Evaluation of targeted drenching using FAMACHA method in Creole goat : Reduction of anthelmintic use, and effects on kid production and pasture contamination. *Veterinary Parasitology*. 2007 ; 146(1-2) : 135-147
- Mahieu M., Aumont G., Michaux Y., Alexandre G., Archimède H., Boval M., Thériez M. L'association d'ovins et de bovins sur prairies irriguées. *INRA Productions Animales*. 1997;10(1):55-65.
- Marroquin L.D., Elyassnia D., Griffiths J.S., Feitelson J.S., Aroian R.V. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin susceptibility and isolation of resistance mutants in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 2000;155(4):1693-9.
- Matthews J.B., Geldhof P., Tzelos T., Claerebout E. Progress in the development of subunit vaccines for gastrointestinal nematodes of ruminants. *Parasite Immunology*. 2016;38(12):744-53.

- Mavrot F. Livestock nematode infection in a changing world: Investigating the European situation [PhD thesis]: University of Zürich; 2016.
- McKellar Q. A. Ecotoxicology and residues of anthelmintic compounds. *Vet Parasitol.* 1997;72:413-35.
- McKenna P.B. The diagnostic value and interpretation of faecal egg counts in sheep. *New Zealand Veterinary Journal.* 1981;29:129-32.
- McLeod R.S. Costs of major parasites to the Australian livestock industries. *International Journal for Parasitology.* 1995;25(11):1363-7.
- McRae K.M., Stear M.J., Good B., Keane O.M. The host immune response to gastrointestinal nematode infection in sheep. *Parasite Immunology.* 2015;37(12):605-13.
- Medeiros A.E., Ramos Z., Banchemo G.E. First report of monepantel *Haemonchus contortus* resistance on sheep farms in Uruguay. *Parasites & Vectors.* 2014;7.
- Milhes M., Guillerm M., Robin M., Eichstadt M., Roy C., Grisez C., Prévot F., Liénard E., Bouhsira E., Franc M., Jacquet P.. A real-time PCR approach to identify anthelmintic-resistant nematodes in sheep farms. *Parasitology Research.* 2017 March 01;116(3):909-20.
- Molan A.L., Waghorn G.C., Min B.R., McNabb W.C. The effect of condensed tannins from seven herbage on *Trichostrongylus colubriformis* larval migration in vitro. *Folia Parasitologica.* 2000;47:39-44.
- Morgan E.R., Cavill L., Curry G.E., Wood R.M., Mitchell E.S.E. Effects of aggregation and sample size on composite faecal egg counts in sheep. *Vet Parasitol.* 2005;131(1-2):79-87.
- Morris C.A., Vlassoff A., Bisset S.A., Baker R.L., Watson T.G., West C.J., Wheeler M. Continued selection of Romney sheep for resistance or susceptibility to nematode infection: estimates of direct and correlated responses. *Anim Sci.* 2000;70:17-27.
- Mueller-Harvey I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2006;86:2010-37.
- Nicholas F.W.. *Veterinary Genetics.* Oxford University Press, Oxford. 1987.
- Nieuwhof G.J., Bishop S.C. Costs of the major endemic diseases of sheep in Great Britain and the potential benefits of reduction in disease impact. *Animal Science.* 2005;81(1):23-9.
- O'Connor L.J., Walkden-Brown S.W., Kahn L.P. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet Parasitol.* 2006;142:1-15.
- O'Grady J., Akhurst R., Kotze A.C. The requirement for early exposure of *Haemonchus contortus* larvae to *Bacillus thuringiensis* for effective inhibition of larval development. *Veterinary parasitology.* 2007;150(1-2):97-103.

- Papadopoulos E., Gallidis E., Ptochos S.. Anthelmintic resistance in sheep in Europe: A selected review. *Veterinary parasitology*. 2012;189:85-8.
- Paolini V., Fouraste I., Hoste H. In vitro effects of three woody plant and sainfoin extracts on 3rd-stage larvae and adult worms of three gastrointestinal nematodes. *Parasitology*. 2004;129(1):69-77.
- Paraud C., Marcotty T., Lespine A., Sutra J.F., Pors I., Devos I. Cross-resistance to moxidectin and ivermectin on a meat sheep farm in France. *Veterinary parasitology*. 2016/08/15;226(Supplement C):88-92.
- Paraud C., Pors I., Chicard C, Chartier C. Comparative efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* in goat faeces: influence of the duration and of the temperature of coproculture. *Parasitology Research*. 2006;98(3):207-13.
- Paraud C., Chartier C. Le contrôle biologique par les champignons nématophages comme méthode alternative à l'utilisation des anthelminthiques chez la chèvre : étude de l'efficacité, interaction avec un traitement par le thiabendazole. *Rencontres Recherches Ruminants - 24<sup>e</sup> édition Congrès international francophone 2002*.
- Paraud C., Hoste H., Lefrileux Y., Pommaret A., Paolini V., Pors I., Chartier C. Administration of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to goats to control gastro-intestinal nematodes: dose trials. *VetRes*. 2005;36:157-66.
- Pollet G.E., Greeff J.C. Genotype × environment interactions and genetic parameters for fecal egg count and production traits of Merino sheep. *Journal of Animal Science*. 2004;82(10):2840-51.
- Prichard R.K. Genetic variability following selection of *Haemonchus contortus* with anthelmintics. *Trends in Parasitology*. 2001;17(9):445-53.
- Prichard R., Ménez C., Lespine A. Moxidectin and the avrmectins: Consanguinity but not identity. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2012;2:134-53.
- Reist M., Erdin D., von Euw D., Tschuemperlin K., Leuenberger H., Chilliard Y., Hammon H.M., Morel C., Philipona C., Zbinden Y., Kuenzi N., Blum J.W. Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2002; 85(12): 3314-3327
- Robert-Granié C., Legarra A., Ducrocq V. Principes de base de la sélection génomique. *INRA Productions Animales*. 2011;24(4):331-40.
- Roberts J.L., Swan R.A. Quantitative studies of ovine haemonchosis. I. Relationship between faecal egg counts and total worm counts. *Vet Parasitol*. 1981;8(2):165-71.
- Rocha R.A., Araújo J., Amarante A.F.T. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against infections by *Haemonchus* and *Trichostrongylus* species in lambs at pasture. *Journal of Helminthology*. 2007;81(4):387-92.



- Rose H., Rinaldi L., Bosco A., Mavrot F., de Waal T., Skuce P., Charlier J., Torgerson P.R., Hertzberg H., Hendrickx G., Vercruysse J., Morgan E.R. Widespread anthelmintic resistance in European farmed ruminants: a systematic review. *VetRecord*. 2015;176(21).
- Rowe A., McMaster K., Emery D., Sangster N. *Haemonchus contortus* infection in sheep: Parasite fecundity correlates with worm size and host lymphocyte counts. *Veterinary parasitology*. 2008;153(3-4):285-93.
- Ruiz-Huidobro C., Sagot L., Lugagne S., Huang Y., Milhes M., Prevot F., Grisez C., Gautier D., Valadier C., Sautier M., Jacquet P. Rotation des pâtures et des parcelles: impact du pâturage cellulaire sur la dynamique des populations de nématodes parasites du tube digestif chez les ovins. Journées Nationales GTV; Nantes 2019.
- Saccareau M., Moreno C.R., Kyriazakis I., Faivre R., Bishop S. Modelling gastrointestinal parasitism infection in a sheep flock over two reproductive seasons : in silico exploration and sensitivity analysis. *Parasitology*. 2016; 143(12):1509-1531
- Safari A., Fogarty N.M. Genetic Parameters for sheep production traits: Estimates from the Literature. 2003.
- Sulai M., Cabaret J., Hostache G., Mandonnet N., Aumont G. Life-trait evolution of a parasite strongyle nematode in response to host resistance: an experimental approach using *Haemonchus contortus* in black belly lambs. *Genet Sel Evol*. 2001;33(Supplement 1):S25-S44.
- Schröder U.J. and Staufenbiel R. Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness. *Journal of Dairy Science*. 2006; 89(1): 1-14
- Scott I., Pomroy W.E., Kenyon P.R., Smith G., Adlington B. Moss A. Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet Parasitol*. 2013;198(1-2):166-71.
- Seaton D.S., Jackson F., Smith W.D., Angus K.W. Development of immunity to incoming radiolabelled larvae in lambs continuously infected with *Ostertagia circumcincta*. *Research in Veterinary Science*. 1989;46(2):241-6.
- Sechi S., Salaris S., Scala A., Rupp R., Moreno C.R., Bishop S.C., Casu S. Estimation of (co)variance components of nematode parasites resistance and somatic cell count in dairy sheep. *Italian Journal of Animal Science*. 2009;8(sup2):156-8.
- Seó H.L.S., Filho L., Honorato L.A., da Silva B.F., do Amarante A.F.T., Bricarello P.A. The effect of gastrointestinal nematode infection level on grazing distance from dung. *PLoS ONE*. 2015;10(6): e0126340.
- Shaw D.J. et Dobson A.P. Patterns of macroparasite abundance and aggregation in wildlife populations: a quantitative review. *Parasitology*. 1995;111(S1 (Ecology of wildlife host-parasite interactions):S111-S33.
- Shaw R.J., Morris C.A., Wheeler M., Tate M., Sutherland I.A.. Salivary IgA: A suitable measure of immunity to gastrointestinal nematodes in sheep. *Veterinary parasitology*. 2012;186:109-17.

Silvestre A. et Cabaret J. Résistance aux benzimidazoles chez les nématodes gastro-intestinaux parasites de petits ruminants : diagnostic moléculaire et stratégies de traitements. Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. 2001:175-80.

Silvestre A. et Cabaret J. Mutation in position 167 of isotype 1 b-tubulin gene of Trichostrongylid nematodes: role in benzimidazole resistance? Molecular & Biochemical Parasitology 2002;120:297-300.

Sinott M.C., Cunha Filho N.A., Castro L.L.D., Lorenzon L.B., Pinto N.B., Capella G.A., Leite F.P.L. *Bacillus* spp. toxicity against *Haemonchus contortus* larvae in sheep fecal cultures. Experimental Parasitology. 2012;132(2):103-8.

Smith W.D. A commercial vaccine for Barber's pole worm—further development. Project report BAHE0214 Meat & Livestock Australia. 2014.

Smith G., Grenfell B.T., Isham V., Cornell S. Anthelmintic resistance revisited: under-dosing, chemoprophylactic strategies, and mating probabilities. International Journal for Parasitology. 1999;29(1):77-91.

Southcott W.H., Barger I.A. Control of nematode parasites by grazing management - II Decontamination of sheep and cattle pastures by varying periods of grazing with the alternate host. International Journal for Parasitology. 1975;5(1):45-8.

Stear M.J., Bishop S.C., Doligalska M., Duncan J.L., Holmes P.H., Irvine J., McCrie L., McKellar Q.A., Sinski E., Murray M. Regulation of egg production, worm burden, worm length and worm fecundity by host responses in sheep infected with *Ostertagia circumcincta*. Parasite Immunology. 1995;17(12):643-52.

Stear M.J., Doligalska M., Donskow-Schmelter K. Alternatives to anthelmintics for the control of nematodes in livestock. Parasitology. 2006;134(2):139-51.

Stear M.J., Strain S., Bishop S.C. Mechanisms underlying resistance to nematode infection. International Journal for Parasitology. 1999;29(1):51-6.

Steel J.W. Effects of protein supplementation of young sheep on resistance development and resilience to parasitic nematodes. Animal Production Science. 2003;43(12):1469-76.

Strain S.A.J., Stear M.J. The influence of protein supplementation on the immune response to *Haemonchus contortus*. Parasite Immunology. 2008;23(10):527-31.

Taylor M.A. Parasitological examinations in sheep health management. Small Ruminant Research. 2010;92:120-5.

Taylor C.S., Murray J.I., Thonney M.L. Breed and sex differences among equally mature sheep and goats 4. Carcass muscle, fat and bone. Anim Sci. 1989;49(3):385-409.

- Terefe G., Grisez C., Prévot F., Bergeaud J.P., Dorchies P., Brunel J.C., François D., Fourquaux I., Jacquet P. In vitro pre-exposure of *Haemonchus contortus* L3 to blood eosinophils reduces their establishment potential in sheep. *Vet Res.* 2007;38:647-54.
- Torres-Acosta J.F.J., Hoste H. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research.* 2008;77(2-3):159-73.
- Van den Brom R., Moll L., Kapprt C., Vellema P. *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep. *Vet Parasitol.* 2015;209(3-4):278-80.
- VanRaden P.M. Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science.* 2008; 91: 4414-4423
- Van Wyk J.A. Refugia - overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 2001;68:55-67.
- Van Wyk J.A. et Bath G.F. The FAMACHA© system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment *Vet Res.* 2002;33:509-29.
- Van Wyk J.A., Hoste H., Kaplan R.M., Besier R.B. Targeted selective treatment for worm management - How do we sell rational programs to farmers? *Vet Parasitol.* 2006;139(4):336-46.
- Van Wyk J.A., Mayhew E. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 2013;80(1):14 pages.
- Van Wyk J.A., Stenson M.O., Van der Merwe J.S., Vorster R.J., Viljoen P.G. Anthelmintic resistance in South Africa: surveys indicate an extremely serious situation in sheep and goat farming. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 1999;66(4):273-84.
- Van WYk J.A. et Reynecke D.P. Blueprint for an automated specific decision support system for countering anthelmintic resistance in *Haemonchus spp.* at farm level. *Vet Parasitol.* 2011;177(3-4):212-23.
- Vande Velde F., Charlier J., Claerebout E. Farmer behavior and gastrointestinal nematodes in ruminant livestock - uptake of sustainable control approaches. *Front Vet Sci.* 2018;5.
- Villalba J.J., Miller J., Ungar E.D., Landau S.Y., Glendinning J. Ruminant self-medication against gastrointestinal nematodes: evidence, mechanism, and origins. *Parasite.* 2014;21.
- Villalba J.J., Provenza F.D., Hall J.O., Lisonbee L.D. Preference for flavored wheat straw by lambs conditioned with intraruminal infusions of starch administered at different times after straw ingestion. *Journal of Animal Science.* 1999;77:3185-90.
- Virlouvet G. Effets des antiparasitaires sur les insectes coprophages. *Le Point vétérinaire.* 2005;255(255).

- Waghorn T.S., Leathwick D.M., Chen L.Y., Skipp R.A. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against three species of gastro-intestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. *Veterinary parasitology*. 2003;118(3-4):227-34.
- Wallace D.S., Bairden K., Duncan J.L., Fishwick G., Gill M., Holmes P.H., McKellar Q.A., Murray M., Parkins J.J., Stear M.J. Influence of supplementation with dietary soyabean meal on resistance to haemonchosis in Hampshire down lambs. *Research in Veterinary Science*. 1995;58(3):232-7.
- Wang T., Van Wyk J.A., Morrison A., Morgan E.R. Moisture requirements for the migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae out of faeces. *Veterinary parasitology*. 2014;204:258-64.
- Wei J.Z., Hale K., Carta L., Platzer E., Wong C., Fang S.C., Aroian R.V. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(5):2760-5.
- Whitlock J.H., Crofton H.D., Georgi J.R. Characteristic of parasite populations in endemic trichostrongylidosis. *Parasitology*. 1972;64:413-27.
- Whittaker J.H., Carlson S.A., Jones D.E., Brewer M.T. Molecular mechanisms for anthelmintic resistance in strongyle nematode parasites of veterinary importance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2016;40(2):105-15.
- Williams A.R. Some Observations on the Role of Bradykinin in Immunity to *Teladorsagia circumcincta* in Sheep. *Journal of Parasitology Research*. 2012:1-4.
- Wolstenholme A.J., Fairweather I., Prichard R., von Samson-Himmelstjerna G., Sangster N.C. Drug resistance in veterinary helminths. *Trends in Parasitology*. 2004; 20(10):469-76.
- Woolaston R.R., Barger I.A., Piper L.R. Response to helminth infection of sheep selected for resistance to *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology*. 1990; 20(8):1015-8.
- Wolstenholme A.J., Fairweather I., Prichard R., von Samson-Himmelstjerna G., Sangster N.C. Drug resistance in veterinary helminths. *Trends in Parasitology*. 2004; 20(10):469-76.
- Woolaston R.R., Barger I.A., Piper L.R. Response to helminth infection of sheep selected for resistance to *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology*. 1990; 20(8):1015-8.
- Zhang Z., Ersoz E., Lai CQ., Todhunter R.J., Tiwari H.K. et al. Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies. *Nature Genetics*, 2010; 42, pp. 355--360.
- Zvinorova P.I., Halimani T.E., Muchadeyi F.C., Matika O., Riggio V., Dzama K. Breeding for resistance to gastrointestinal nematodes – the potential in low-input/output small ruminant production systems. *Veterinary Parasitology*. 2016; 225: 19-28

**Résumé :** Les nématodes gastro-intestinaux constituent une contrainte majeure pour la santé des ruminants élevés au pâturage et sont à l'origine d'importantes pertes de production. Le recours systématique aux anthelminthiques est remis en question depuis plusieurs années du fait du développement de résistance à ces molécules chez les parasites, de leur impact sur l'environnement et des attentes de la société envers les filières d'élevage. Un effort de recherche important est fourni pour trouver des stratégies qui, associées à un usage raisonné des anthelminthiques, permettraient un contrôle durable des nématodes gastro-intestinaux. La sélection génétique d'animaux plus résistants fait partie des plus prometteuses. Cette thèse vise à étudier la mise en œuvre de cette sélection et à évaluer les impacts qu'elle pourrait avoir sur les autres caractères en sélection et sur les différentes fonctions biologiques de l'animal (croissance, production, reproduction). Un protocole d'infestation expérimentale a été mis au point afin d'évaluer les capacités de résistance des animaux au nématode hématophage *Haemonchus contortus* grâce à la mesure du nombre d'œufs de parasite excrétés dans les fèces et de l'hématocrite. Les paramètres génétiques de ces caractères de résistance montrent que la résistance est héritable et qu'une très bonne corrélation existe entre des béliers infestés expérimentalement et des brebis infestées au pâturage en race laitière Manech Tête Rousse. Ces résultats ont permis de valider l'efficacité de l'utilisation de protocoles d'infestation expérimentale dans les schémas de sélection pour prédire la résistance au parasitisme en conditions d'infestations naturelles. La recherche de régions du génome impliquées dans la résistance aux nématodes gastro-intestinaux a permis de conclure à un déterminisme polygénique de ce caractère. Une sélection concomitante pour les caractères laitiers et un faible nombre d'œufs excrétés dans les fèces est conseillée à l'avenir. Elle est réalisable puisque des corrélations génétiques certes défavorables mais faibles ont été estimées entre le nombre d'œufs excrétés dans les fèces et les caractères de production laitière. Enfin, l'étude de lignées divergentes sélectionnées en race Romane pour une résistance ou une sensibilité accrue à *H. contortus* a permis d'évaluer les effets à long terme de la sélection. L'efficacité de la sélection a pu être démontrée chez de jeunes femelles en croissance. Les résultats montrent que cette sélection pourrait être associée chez les animaux résistants à un coût énergétique plus élevé de la réponse immunitaire dans les premières semaines suivant l'infestation. Ce coût énergétique doit encore être estimé à un moment plus tardif par rapport à l'infestation et à d'autres stades physiologiques de l'animal. En conclusion, une sélection pour la résistance au parasitisme efficace peut être mise en place mais des études complémentaires doivent être menées afin d'estimer ses impacts sur le long terme.

**Mots clés :** ovins, sélection génétique, parasitisme gastro-intestinal, production, lignées divergentes

**Summary:** Gastrointestinal nematodes are a major constraint on the health of grazing ruminants and cause significant production losses. The systematic use of anthelmintics has been questioned for several years due to the development of parasite resistance to these molecules, their impact on the environment and consumer concerns about livestock industry. A major research effort is being made to find strategies that, combined with a rational use of anthelmintics, would allow sustainable control of gastrointestinal nematodes. The genetic selection of more resistant animals is one of the most promising. This thesis aims to study the implementation of this selection and to evaluate the impacts it could have on the other traits under selection and on the different biological functions of the animal (growth, production, reproduction). An experimental infestation protocol has been developed to evaluate the resistance capacities of animals to the hematophagous nematode *Haemonchus contortus* by measuring the number of parasite eggs excreted in the faeces and the hematocrit. The genetic parameters of these parasite resistance traits show that resistance is heritable and that a very good correlation exists between experimentally infested rams and ewes infested on pasture in the Blond-faced Manech dairy breed. These results validated the effectiveness of the use of experimental infestation protocols in selection schemes to predict parasite resistance in natural conditions of infestation. The search for genome regions involved in resistance to gastrointestinal nematodes has revealed a polygenic determinism of this trait. Concomitant selection for milk production traits and low fecal egg counts is recommended in the future. It is feasible since low, although unfavourable, genetic correlations have been estimated between the number of eggs excreted in faeces and milk production traits. Finally, the long-term effects of the selection were evaluated in a study involving divergent lines selected in Romane breed for increased resistance or sensitivity to *H. contortus*. The effectiveness of the selection has been demonstrated in young growing females. The results showed that this selection could be associated with a higher energy cost of the immune response in resistant animals during the first weeks after infestation. But we have to evaluate this energy cost at a later time post infestation and for different physiological status of the animal. In conclusion, a selection for effective parasite resistance can be put in place but additional studies must be carried out in order to estimate its long-term impacts.

**Keywords:** sheep, genetic selection, gastrointestinal parasitism, production, divergent lines