

### Nouvelles approches pour le contrôle des parasites résistants aux vermifuges

Claude L. Charvet, Elise Courtot, Abdallah Harmache, Fabrice Guégnard, Cédric Neveu

#### ▶ To cite this version:

Claude L. Charvet, Elise Courtot, Abdallah Harmache, Fabrice Guégnard, Cédric Neveu. Nouvelles approches pour le contrôle des parasites résistants aux vermifuges. Carrefours de l'Innovation Agronomique (CIAG): Prévenir et guérir les maladies infectieuses dans le concept One Health, Jun 2018, Tours, France. hal-03470939

HAL Id: hal-03470939 https://hal.inrae.fr/hal-03470939

Submitted on 9 Dec 2021

**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.



## Nouvelles approches pour le contrôle des parasites résistants aux vermifuges



Equipe Multirésistances et pouvoir pathogène des nématodes, UMR 1282 ISP Cédric Neveu (cedric.neveu@inra.fr)

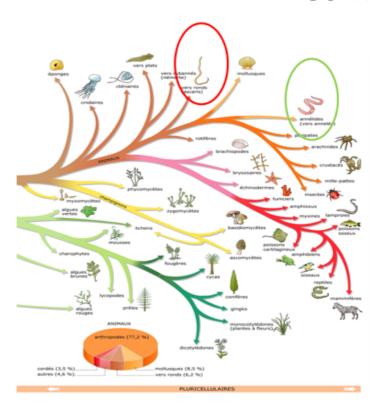
Carrefours de l'innovation agronomique



Prévenir et guérir les maladies infectieuses dans le concept One Health



## Les nématodes



Nématodes ≠ Vers de terre plusieurs millions d'années de divergence!

1-5 km d'hyphes de champignon 10<sup>6</sup>-10<sup>9</sup> bactéries

10-60000 protozoaires

#### 50-100 nématodes

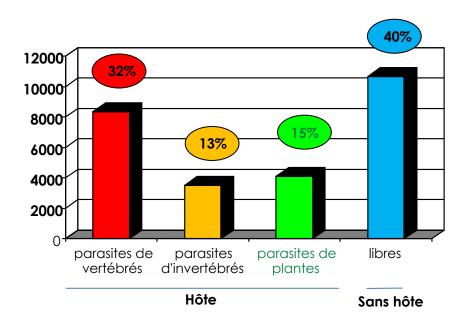
- <1 collembole
- <1 acarien



#### **☞** Taille :

Généralement microscopiques : 1/10 de millimètres ...jusqu'à 7m pour un parasite de baleine

### Mode de vie des nématodes



Moitié libres (sol, eau)....moitié parasites

## Impact des nématodes parasites

### en santé humaine

Enterobius vermicularis (O.F.)

Ascaris lumbricoides (O.F.) 350 millions atteintes graves, 60 000 décès annuels (OMS)

Onchocerca volvulus (vecteur)

Brugia malayi (vecteur)



### en santé animale





Pertes économiques liées :

- 1) baisses de productions (lait, viande, laine)
- 2) Coût des traitements

La lutte contre les nématodes est essentiellement basée sur l'utilisation d'anthelminthiques (« vermifuges »)

# Les ANTHELMINTHIQUES (vermifuges)

Trois principales familles de molécules anthelminthiques



Benzimidazoles





Lactones macrocycliques

Ivermectine





Agonistes cholinergiques Levamisole, pyrantel, Morantel



# L'usage massif des anthelmithiques a inévitablement conduit à l'émergence de parasites résistants!

### Dans les élevages:

la résistance est présente à des degrés divers mais contre toutes les molécules disponibles sur le marché!

**Exemple des benzimidazoles** 

Cas critique des multirésistances: un nombre restreint de molécules disponibles....

Actuellement, pas d'alternative économiquement viable:

De rares vaccins existent mais peu efficaces, trop chers, trop spécifiques, trop contraignants pour les éleveurs.....

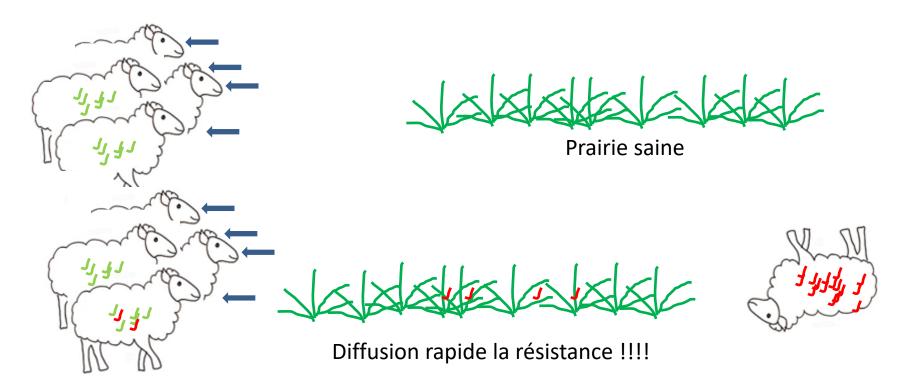
L'utilisation raisonnée des antiparasitaires disponibles:



Une réponse à la demande sociétale Une nécessité absolue pour les éleveurs !!!!

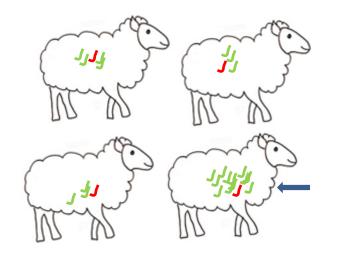
## Optimiser les pratiques d'élevage dans un contexte de résistance

Quand les antiparasitaires étaient efficaces....réduction maximale de la charge parasitaire



### Dans un contexte de résistance....

Objectif: maintenir des allèles de susceptibilité dans les populations parasitaires



Coproscopies pour identifier les animaux les plus infestés Traitement ciblé avec une molécule encore efficace...

Prairie contaminée

Nécessite une acceptation des baisses de productions...il est indispensable de prolonger l'efficacité des molécules actuelles et à venir ....

# Pour optimiser l'usage des anthelminthiques dans un contexte de résistance



Elucider le mode d'action des anthelminthiques identification des cibles pharmacologiques chez les nématodes parasites



Identifier les mécanismes moléculaires impliqués dans l'acquisition de la résistance diagnostiquer précocement la résistance, optimiser l'usage des molécules disponibles

Identifier de nouvelles cibles pour le développement de nouveaux anthelminthiques (synthèse ou naturels)

# Les agonistes cholinergiques

Benzimidazoles, Ivermectines, Agonistes cholinergiques (levamisole, pyrantel, morantel)

Les agonistes cholinergiques restent efficaces pour contrôler les populations de nématodes BZ-R et IVM-R

Identification des cibles moléculaires et des mécanismes impliqués dans la résistance chez *Haemonchus contortus* (espèce cosmopolite, la plus pathogène chez les petits ruminants)

# Cibles des agonistes cholinergiques

(Levamisole, Pyrantel, Morantel....)

## Récepteurs à l'acétylcholine: AChRs

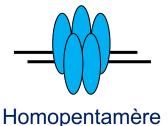
Canaux ioniques (ligand-dépendant)
Impliqués dans les neurotransmissions synaptiques

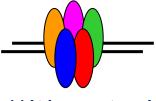
Les agonistes cholinergiques induisent une activation permanente des récepteurs localisés au niveau des jonctions neuro-musculaires



Paralysie du nématode

Constitués de 5 sous-unités





K+, Na+, Ca2+

Hétéropentamère

# Pour déterminer la composition en sous-unités du (ou des) récepteur(s) à l'anthelminthique d'intérêt







L'œuf de Xénope: un système d'expression hétérologue pour les AChRs de nématodes

### **Etudes électrophysiologiques**

Déterminer les propriétés pharmacologiques des récepteurs (sensibilité à différents agonistes cholinergiques)

### Grande diversité de sous-unités d'AChR chez les Nématodes

# Chez *H. contortus*, 30 sous-unités différentes Une diversité potentielle d'AChR énorme!



Tester des combinaisons aléatoires de sous-unités est inenvisageable

Avec 30 couleurs différentes !!!!!

### Les données de l'espèce modèle *C.elegans*



Caenorhabditis elegans

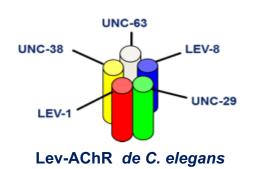
### C. elegans est sensible aux anthelminthiques

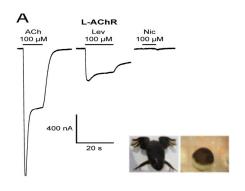
Générer des mutants résistants aux anthelminthiques pour identifier les gènes impliqués dans la synthèse de leurs récepteurs

### Criblage de mutants résistants au Lev



lev-1nAChR subunitlev-8nAChR subunitunc-29nAChR subunitunc-38nAChR subunitunc-63nAChR subunit





Boulin et al. 2008

### **Transposition aux espèces parasites?**

UNC-38 UNC-29 UNC-63

Homologues de ces sous-unités chez tous les nématodes

LEV-8 Hypo im Absentes chez une majorité des espèces parasites sensibles au levamisole!

Hypothèse: chez les parasites, une ou plusieurs autres sous-unités impliquées dans la composition du récepteur au levamisole ?

Analyse différentielle des transcriptomes d'isolats LEV-S et LEV-R d'H. contortus Identification d'un candidat potentiel

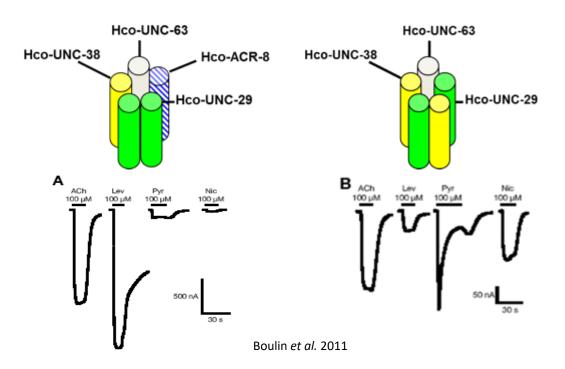
Le plus proche homologue de LEV-8 Présent chez tous les parasites sensibles au levamisole

ACR-8

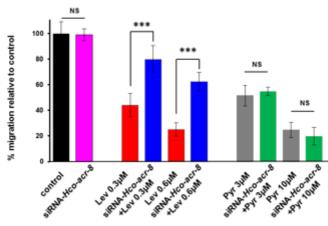


### Les récepteurs recombinants d'H. contortus

H. contortus



# Inhibition de l'expression d'ACR-8 chez *H. contortus* (ARN interférence)



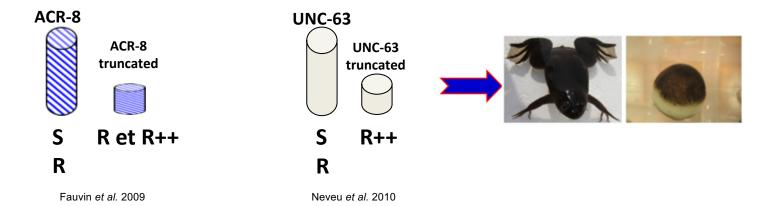
Blanchard et al. 2018

Perte de sensibilité au Levamisole mais pas d'impact sur la sensibilité au Pyrantel Ces 2 molécules activent préférentiellement des récepteurs distincts chez le parasite

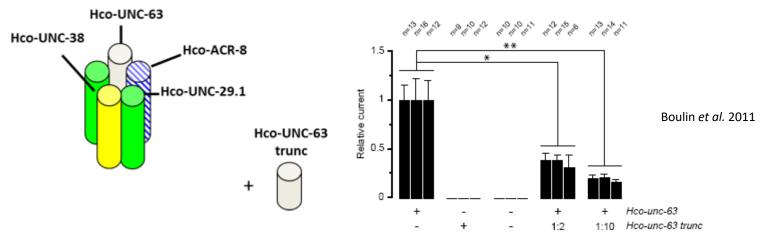
### Recherche de polymorphimes associés à la résistance au Lévamisole

Chez des isolats d'H. contortus (sensibles / résistants) analyse des séquences et de l'expression des différentes sous-unités du L-AChR :

- Toutes les sous-unités sont exprimées chez les S et les R
- Comparaison des séquences : pas de polymorphisme potentiellement associé à la résistance
- Des formes tronquées de certaines sous-unités sont spécifiquement exprimées chez les isolats résistants



### Implication des formes tronquées d'AChR dans la résistance au Levamisole



Effet dominant négatif sur l'expression du récepteur au Levamisole d'H. contortus

La perte de cibles est un mécanisme classique de résistance aux xénobiotiques

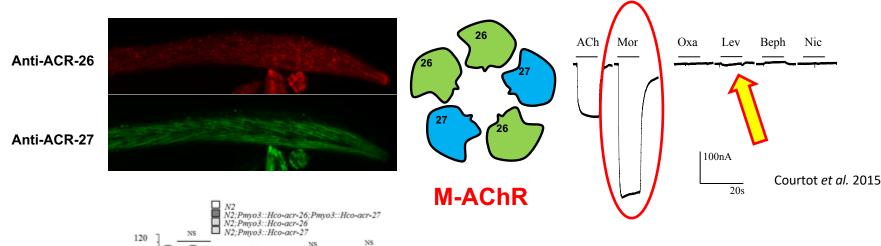
 Première validation d'un mécanisme moléculaire de résistance au Lévamisole chez les nématodes parasites

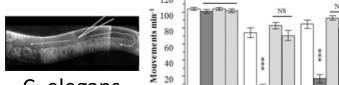
### Les hypothèses

Pour les résistants « simple dose » ACR-8 trunc Le Pyrantel peut encore être efficace (en cours d'évaluation) Pour les résistants « double doses » UNC-63 trunc Résistance croisée Lev-Pyr que l'on pouvait anticiper à partir de ces résultats confirmée sur des isolats du terrain ou sélectionnés artificiellement...)

## Un nouvel espoir pour le contrôle des parasites résistants au Lev/Pyr!

Un nouveau sous-type d'AChR musculaire spécifique des nématodes parasites d'animaux (absent chez les espèces libres (C. elegans) et les parasites de plantes).





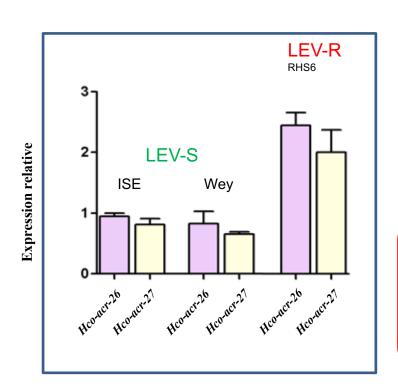
t10

40µM Morantel

C. elegans

ACR-26 et ACR-27 des parasites *H. contortus* et *P. equorum* forment des hétéropentamères fonctionnels *in vivo* qui confèrent la sensibilité au Mor au *C. elegans* transgéniques

## M-AChR et la Résistance au levamisole et au Pyrantel



Les isolats LEV R++/pyr sont hypersensibles au Morantel *in-vitro*!

Perte du sous-type L-AChR compensé par la surexpression du M-AChR ?

Un point faible des parasites résistants!

La recherche de nouveaux anthelminthiques capables d'activer le M-AChR est en cours

L'étude de l'acquisition de l'hypersensibilité associée à une résistance est actuellement étendue à d'autres espèces et d'autres familles d'anthelminthiques

# Équipe MPN

Claude Charvet **Elise Courtot** 

Abdallah Harmache **Fabrice Guegnard** 

**Jacques Cortet** 

Collaborateurs

Robin BEECH (McGill Univ.)

Adrian Wolstenholme (Univ. Of Georgia) Barbara Reaves (Univ. Of Georgia)

Lindy Holden-Dye (Southampton Univ.) Vincent O'Connor (Southampton Univ.)

Debra Woods (Zoetis/ Kalamazoo)

Thomas Boulin (ENS / INSERM)