



**HAL**  
open science

## 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

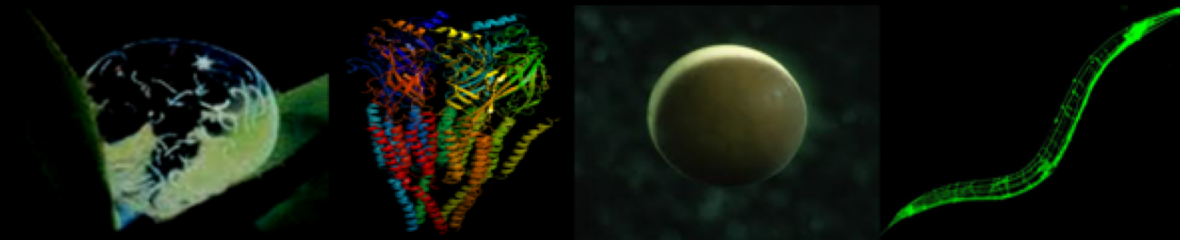
**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

# 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)



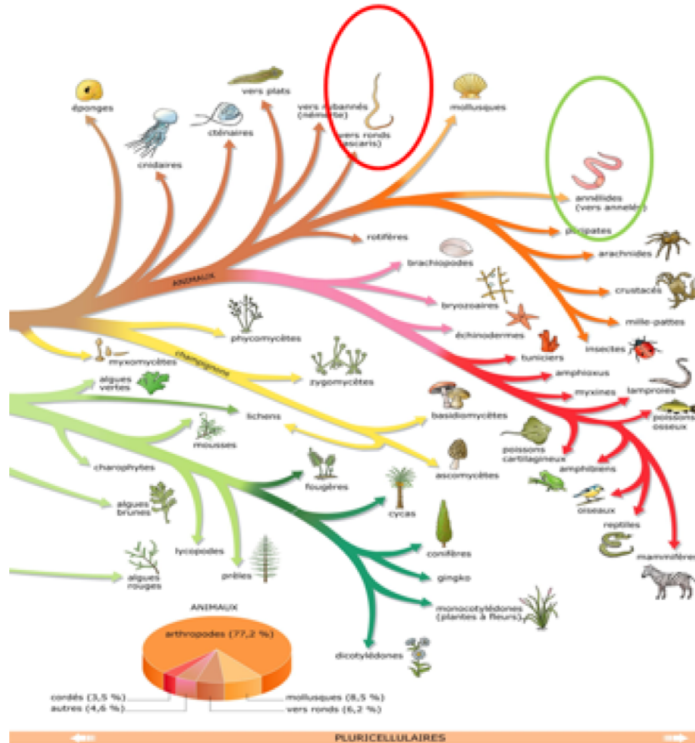
Carrefours de l'innovation  
agricole

## Prévenir et guérir les maladies infectieuses dans le concept One Health

21 juin 2018 | Lycée Descartes | Tours



# Les nématodes



➤ 4/5 des animaux sur terre sont des nématodes

➤ On estime que dans 1cm<sup>3</sup> de sol :

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 :

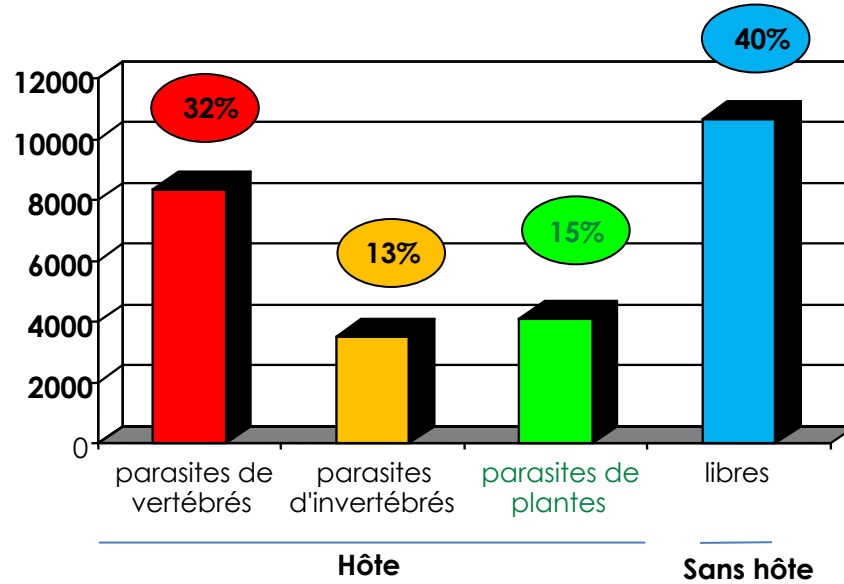
Généralement microscopiques : 1/10 de millimètres

...jusqu'à 7m pour un parasite de baleine

**Nématodes ≠ Vers de terre**

**plusieurs millions d'années de divergence !**

# 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)

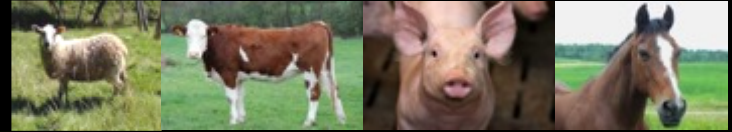


*Brugia malayi* (vecteur)



## en santé animale

### Les nématodes parasites gastro-intestinaux



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:

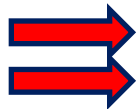
la résistance est présente à des degrés divers mais contre toutes les molécules disponibles sur le marché !

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:

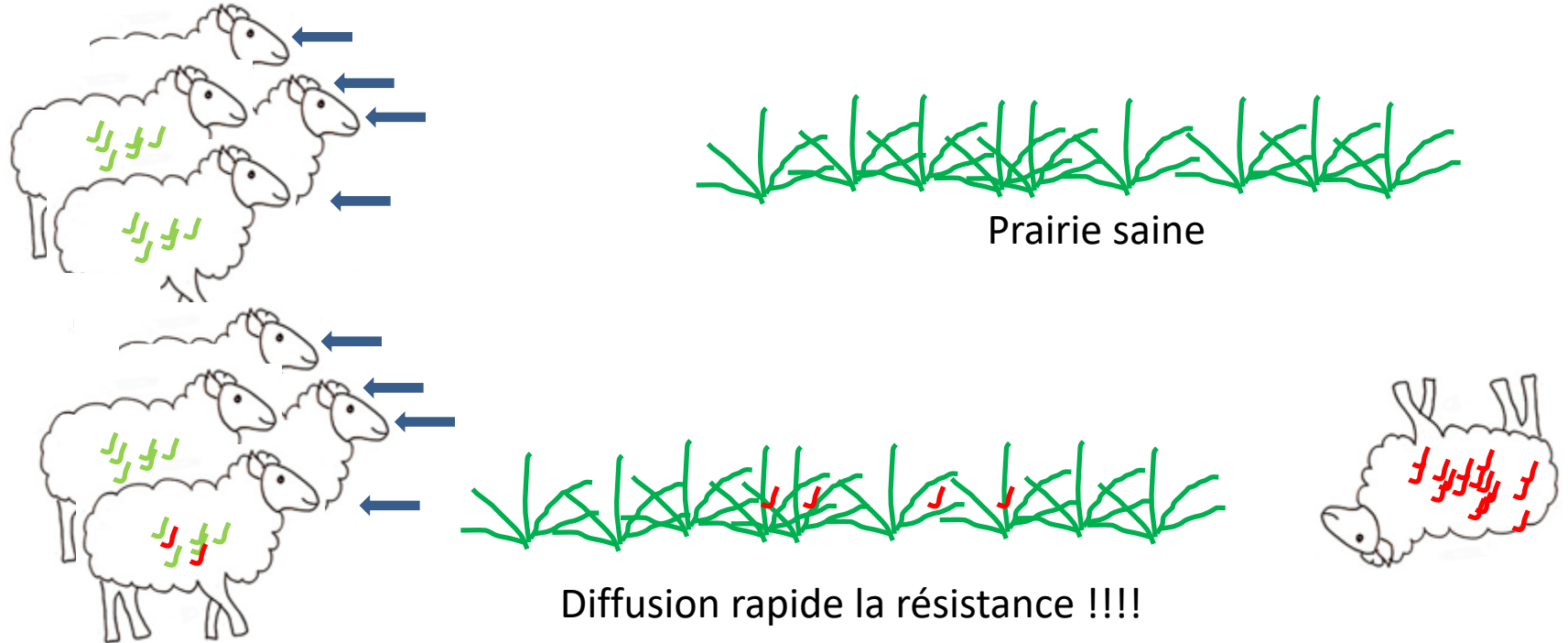


**Une réponse à la demande sociétale**

**Une nécessité absolue pour les éleveurs !!!!**

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

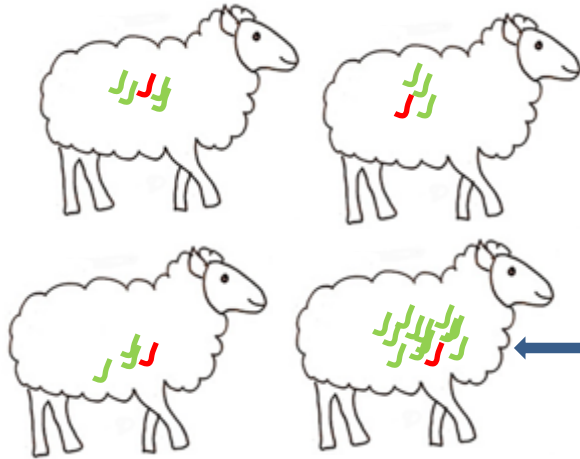
Quand les antiparasitaires étaient efficaces...réduction maximale de la charge parasitaire



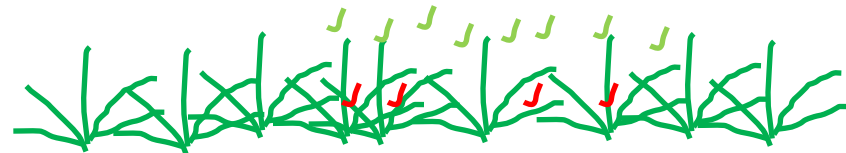


# Dans un contexte de résistance....

**Objectif: maintenir des allèles de susceptibilité dans les populations parasites**



Coprosopies 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**

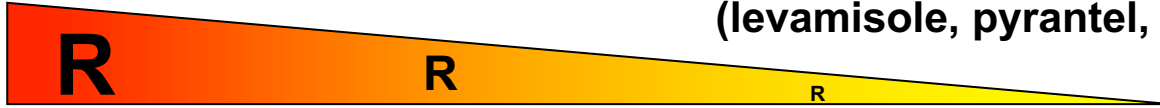
➔ **Identifier les mécanismes moléculaires impliqués**  
**dans l'acquisition de la résistance**  
**diagnostiquer précocement la résistance,**  
**optimiser l'usage des molécules disponibles**

**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)**

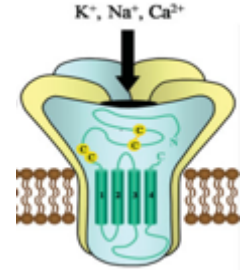
# Cibles des agonistes cholinergiques

(Levamisole, Pyrantel, Morantel....)

## Récepteurs à l'acétylcholine: AChRs

Canaux ioniques (ligand-dépendant)

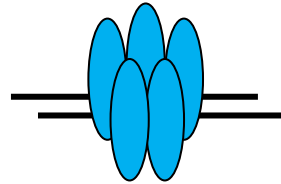
Impliqués dans les neurotransmissions synaptiques



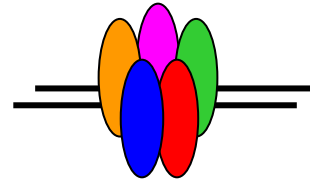
Les agonistes cholinergiques induisent une activation permanente des récepteurs localisés au niveau des jonctions neuro-musculaires

 Paralyse du nématode

Constitués de 5 sous-unités

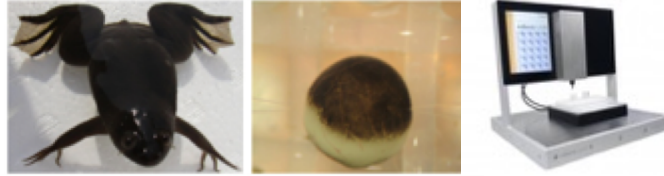


Homopentamère



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*

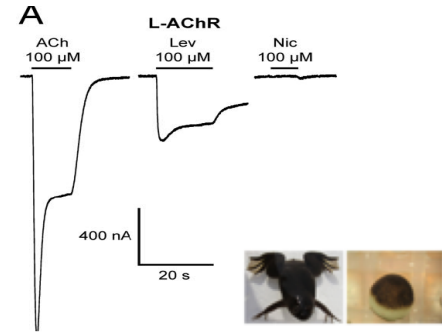
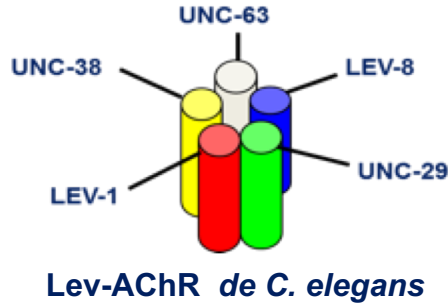
***C. elegans* est sensible aux anthelminthiques**

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

## Criblage de mutants résistants au Lev



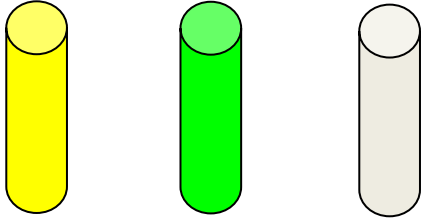
*lev-1* nAChR subunit  
*lev-8* nAChR subunit  
*unc-29* nAChR subunit  
*unc-38* nAChR subunit  
*unc-63* nAChR subunit



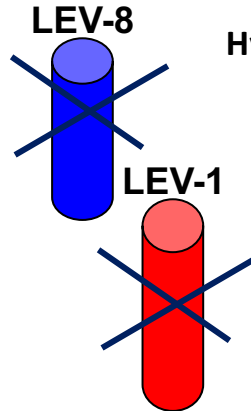
Boulin *et al.* 2008

## Transposition aux espèces parasites ?

UNC-38    UNC-29    UNC-63



Homologues de ces sous-unités  
chez tous les nématodes



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**



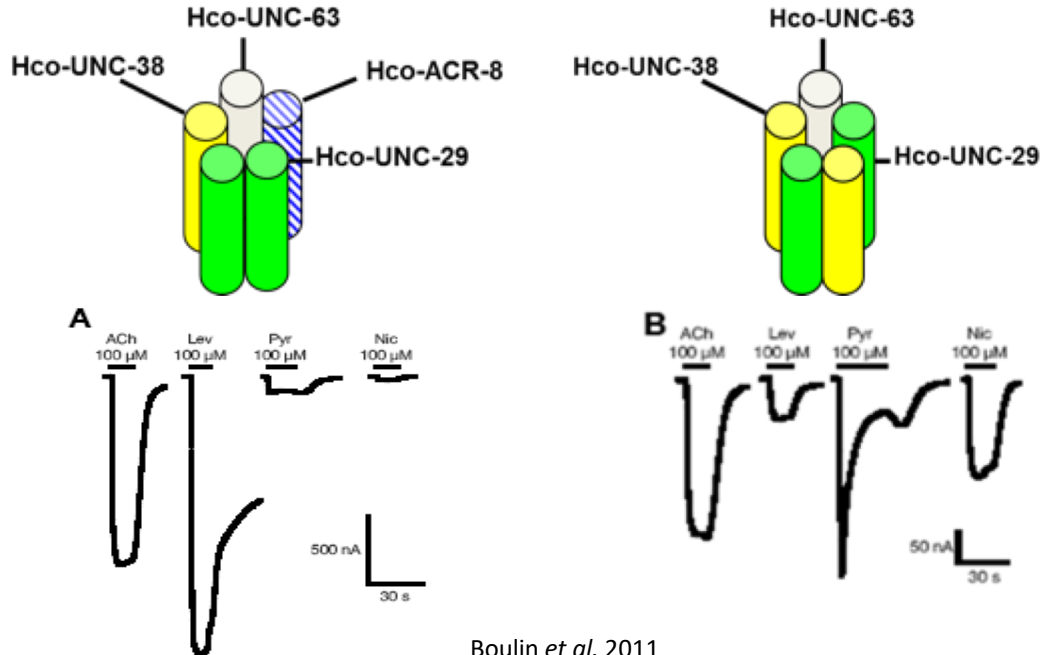
Le plus proche homologue de LEV-8  
Présent chez tous les parasites sensibles au levamisole



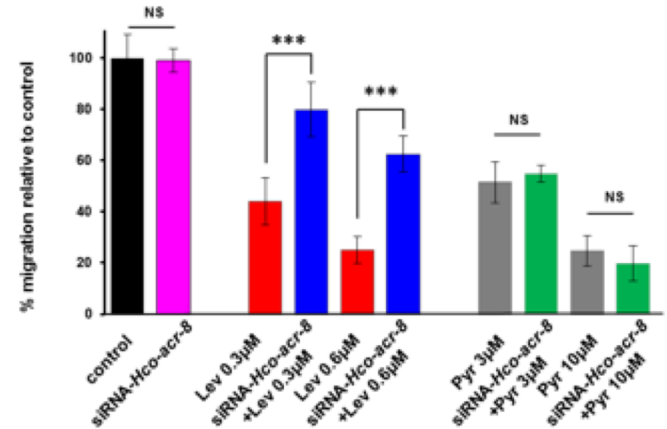


# Les récepteurs recombinants d'*H. contortus*

*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*

ACR-8



S  
R

ACR-8  
truncated



R et R++

Fauvin *et al.* 2009

UNC-63



S  
R

UNC-63  
truncated

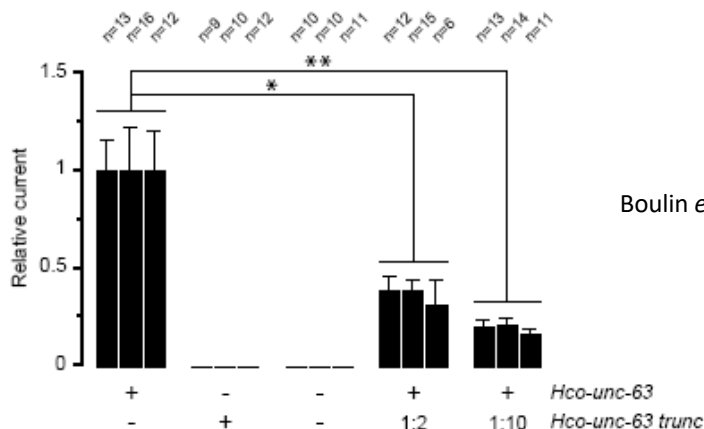
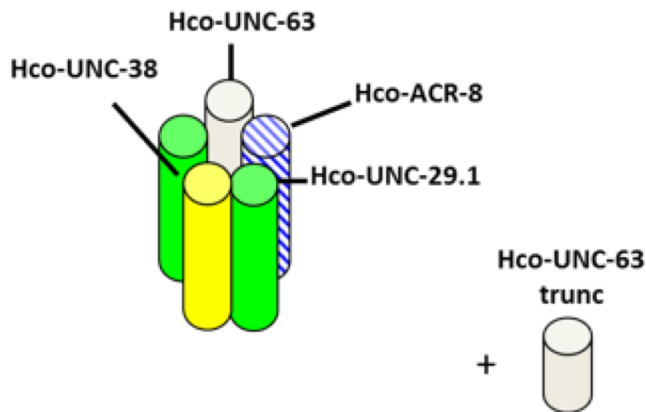


R++

Neveu *et al.* 2010



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



Boulin *et al.* 2011

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 Lévisole chez les nématodes parasites

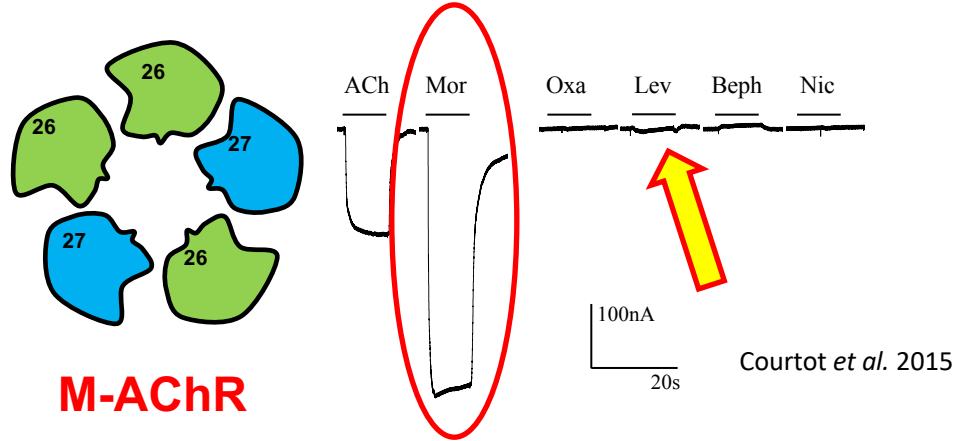
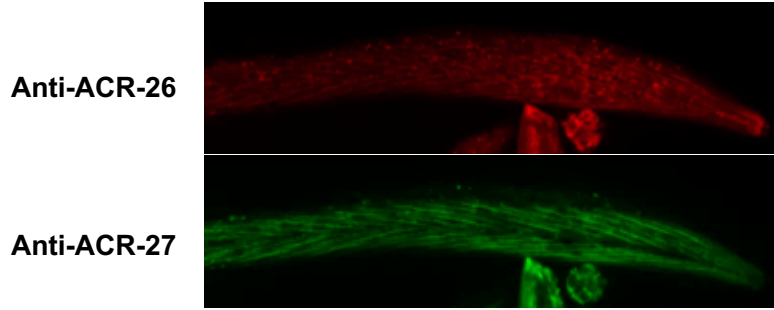
## Les hypothèses

Pour les résistants « simple dose » ACR-8 trunc  
Le Pyrantele peut encore être efficace  
(en cours d'évaluation)

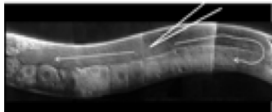
Pour les résistants « double doses » UNC-63 trunc  
Résistance croisée Lev-Pyr que l'on pouvait anticiper à partir de ces résultats confirmée sur des isolats du terrain ou sélectionnés artificiellement...

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

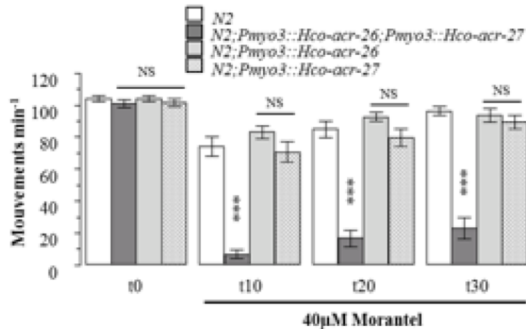
Un nouveau sous-type d'AChR musculaire spécifique des nématodes parasites d'animaux (absent chez les espèces libres (*C. elegans*) et les parasites de plantes).



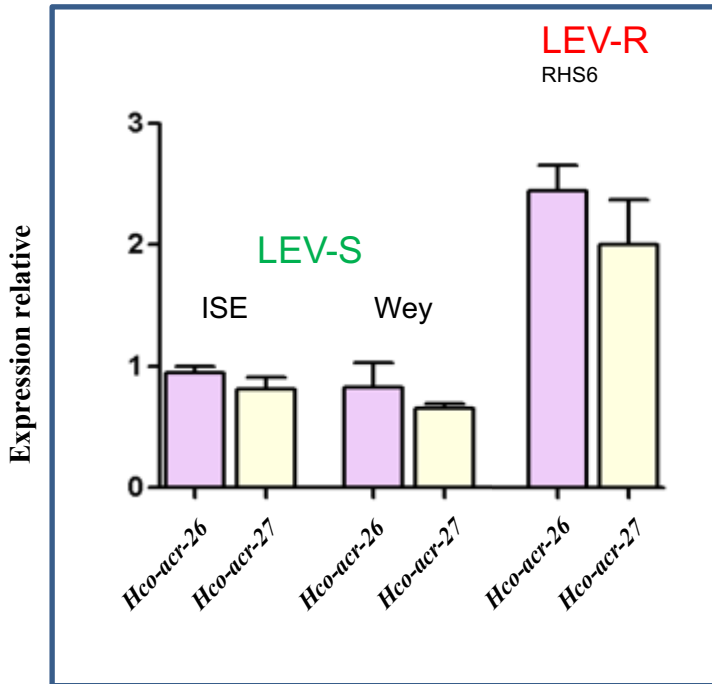
**ACR-26 et ACR-27 des parasites *H. contortus* et *P. equorum* forment des hétéropentamères fonctionnels *in vivo* qui confèrent la sensibilité au Mor au *C. elegans* transgéniques**



*C. elegans*



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



Les isolats LEV R<sup>++</sup>/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)