

La résistance aux antiparasitaires chez les parasites des chevaux

Update on the chemoresistance of equine intestinal parasites to anthelmintic drugs

Par Frédéric BEUGNET⁽¹⁾

(communication présentée le 15 décembre 2005)

RÉSUMÉ

Le phénomène de chimiorésistance touche aujourd'hui plusieurs classes de parasites. Si l'importance économique est avérée en élevage de ruminants dans l'Hémisphère Sud et quelques pays de l'Hémisphère Nord, les Equidés semblaient relativement épargnés jusque dans les années 1980. Depuis cette période, la chimiorésistance des cyathostomes aux benzimidazoles s'est étendue, jusqu'à prendre une importance médicale dans la majorité des pays industrialisés. Les mesures de lutte contre les petits strongles doit aujourd'hui prendre en compte les facteurs de sélection de la résistance, pour en limiter l'extension vis-à-vis des benzimidazoles et du pyrantel et l'apparition vis-à-vis des lactones macrocycliques. Des publications récentes font état de l'apparition probable de cette résistance des cyathostomes à l'ivermectine et à la moxidectine. Les avermectines/milbémycines représentaient jusqu'alors la seule classe thérapeutique préservée, chez les Equidés, par ce phénomène. Il devient donc primordial d'éviter une extension telle qu'elle a été vue avec les benzimidazoles. Les vermifugations doivent être raisonnées et prendre en compte l'épidémiologie et les niveaux d'infestation. Les mesures sanitaires doivent obligatoirement accompagner les mesures médicales. À côté des petits strongles, d'autres parasites des Equidés pourraient laisser apparaître des populations chimiorésistantes, en particulier les ascarides, *Parascaris equorum*. Trois publications récentes font état d'une suspicion de résistance aux lactones macrocycliques. Après un rappel du phénomène de chimiorésistance, l'auteur dresse un bilan épidémiologique de la situation pour les helminthes endoparasites des Equidés. Il présente ensuite les mesures visant à prévenir, sinon ralentir, ce phénomène.

Mots-clés : parasite, chimiorésistance, Equidés, dépistage, prévention.

(1) MERIAL, 29 Av T.Garnier, 69007 Lyon.

Lyons ont décrit une résistance au thiabendazole dès 1965,

SUMMARY

*Chemoresistance is a growing phenomenon which currently affects several types of parasites. Its economical impact in ruminant herds is proven in the southern hemisphere as well as in some countries in the northern hemisphere, but the equine species seemed relatively unaffected until the 1980's. However, since then, cyathostomes resistance to anthelmintics has spread to such an extent that it has become a medical concern in most industrialised countries. Current control programs of small strongyles must take into account the risk of chemoresistance selection, to limit the extension of resistance to benzimidazoles and pyrantel, and prevent the development of a resistance to macrocyclic lactones. Recent publications have reported cases of probable cyathostomes resistance to avermectin and moxidectin. Up until now, the avermectin/milbemycin group was the only resistance-free anthelmintic class in horses. Preventing the extension of this resistance, such as seen with benzimidazoles, is of paramount importance. Worming programs must be part of a reasoned approach, taking into account epidemiological data as well as levels of infestation. Medical measures must be associated to preventive farming practices. Beside the cyathostomes, other equine parasites may become resistant to anthelmintic, especially ascarids (*Parascaris equorum*). Three recent publications reported a suspected *Parascaris* resistance to macrocyclic lactones. After a synopsis on chemoresistance, the author describes the epidemiological situation of parasitic helminths in horses. The methods to prevent or at least slow down this phenomenon are discussed.*

Key words: parasite, chemoresistance, equine, diagnostic, control.

• INTRODUCTION

Le phénomène de chimiorésistance est un mécanisme biologique universel, décrit dans tout le règne vivant, allant des virus aux mammifères. Les résistances aux antiparasitaires sont préoccupantes car elles restreignent les possibilités de lutte contre les parasites, il est donc indispensable de limiter et de contrôler l'apparition de telles populations parasitaires.

La chimiorésistance repose sur un processus de sélection génétique au sein d'une population d'individus (BEUGNET et KERBOEUF, 1997 ; BEUGNET *et al.*, 2005). Les mutants résistants pré-existent avec une fréquence de l'ordre de 1 individu pour 1 à 10 millions. La pression de sélection, exercée par les programmes de lutte antiparasitaire, favorise la multiplication de ces mutants, dont la fréquence augmente progressivement jusqu'à devenir plus importante que celle des individus chimiosensibles. À côté de l'existence de gènes/allèles de résistance, souvent multiples et de mieux en mieux connus, il y a donc un processus dynamique, qui peut prendre plusieurs dizaines d'années et qui aboutit finalement aux échecs thérapeutiques.

Les parasites qui développent des mécanismes de résistance se retrouvent dans tous les phylums : champignons, protozoaires, trématodes, nématodes, acariens, insectes. En médecine vétérinaire (WOLSTENHOLME *et al.*, 2004), quatre catégories peuvent être distinguées : 1- les arthropodes sources de nuisance (mouches, moucheron), 2- les arthropodes parasites et/ou vecteurs (poux mallophages, agents de gales, tiques), 3- les helminthes (en particulier les *Trichostrongylidae* parasites digestifs des ruminants et les *Cyathostominae* parasites des Équidés) et 4- les coccidies.

Chez les chevaux, le phénomène de résistance des cyathostomes aux anthelminthiques n'est pas récent : Drudge et

puis Round en 1974 (revue dans : DRUDGE , LYONS et TOLLIVER, 1991). Cependant, ce phénomène n'avait pas d'importance épidémiologique et restait sporadique. Ce n'est que récemment, à partir de la fin des années 1980, que quelques articles ont indiqué l'émergence de nombreuses populations de petits strongles équins résistantes aux benzimidazoles (description d'une résistance de cyathostomes au mébendazole dans le nord-ouest de l'Angleterre par Britt et Clarkson en 1988). Dès 1991, Boersema décrivait ce phénomène en Europe du Nord, tandis qu'en 1993, Tolliver l'étudiait aux États-Unis (revue dans KAPLAN, 2002).

La résistance des cyathostomes aux benzimidazoles est aujourd'hui décrite dans la majorité des pays du monde : États-Unis, Royaume-Uni, Hollande, Danemark, Norvège, Suède, Allemagne, France... (LYONS *et al.*, 1994, 1996 ; SCHILLINGER et HASSLINGER, 1994 ; CRAVEN *et al.*, 1998 ; TARIGO-MARTINIE, WYATT et KAPLAN, 2001 ; KAPLAN *et al.*, 2004 ; WITHERLE, SCHNIEDER et SAMSON-HIMMELSTJERNA, 2004). La fréquence des populations chimiorésistantes peut être très importante. COLLOBERT-LAUGIER (1999) indiquait que la résistance aux benzimidazoles se retrouve dans 60 % des haras de Normandie. Les études des espèces de cyathostomes montrent que la plupart, probablement toutes, sont capables de devenir résistantes. Les suivis conduits par LYONS *et al.* (1996), indiquaient la fréquence du phénomène au sein de populations de *Cyathostomum catinatum*, *Cyathostomum coronatum*, *Cylicocycylus nassatus*, *Cylicostephanus goldi* et *Cylicostephanus longibursatus*. Il s'agit en fait des espèces les plus fréquentes, par conséquent les plus soumises au processus de sélection.

Après plusieurs années d'expansion de la résistance aux benzimidazoles, cette année voit la publication de suspicion de résistance vis-à-vis des avermectines/milbémycines, dernier groupe anthelminthique employé chez les Équidés (SANGSTER, 1999 ; TRAWFORD, BURDEN et HODGKINSON, 2005 ; VAN SAMSON-HIMMELSTJERNA *et al.*, 2005).

Des suspicions de résistance ont été récemment publiées chez les ascaris (*Parascaris equorum*) (BOERSEMA, EYSKER et NAS, 2002 ; HEARN et PEREGRINE, 2003). Ce phénomène semble encore sporadique mais mérite d'être surveillé.

La prévalence de la résistance des petits strongles aux benzimidazoles et au pyrantel en Europe, l'apparition et donc probablement la future extension de la résistance aux avermectines/milbémycines et peut-être l'émergence de chimiorésistance chez d'autres parasites que les cyathostomes, font que les mesures de lutte anthelminthique chez les Equidés doivent être repensées ; elles doivent surtout intégrer la nécessité de prévenir ou ralentir l'extension des populations parasitaires chimiorésistantes (BEUGNET *et al.*, 2005).

• DÉFINITIONS GÉNÉRALES

(d'après BEUGNET, 1998a)

La définition de la chimiorésistance, énoncée par l'OMS est la suivante : "une population chimiorésistance 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" (OMS, 1976). Cette description concernait à l'origine les arthropodes vecteurs mais elle s'applique à tous les parasites.

Le développement d'une population d'individus chimiorésistants est un phénomène dynamique qui résulte d'une sélection génétique (figures 1 et 2). Les individus résistants, pré-

existants et peu nombreux, sont favorisés par une pression de sélection exercée par l'emploi d'antiparasitaires. Ce phénomène est lié à la sélection de gènes de résistance, présents à l'origine dans la population avec une fréquence initiale très faible, de l'ordre de 10^{-6} (BEUGNET et KERBOEUF, 1997 ; WOLSTENHOLME, 2004).

Il est nécessaire de faire la différence entre un individu chimiorésistant et l'expression de la chimiorésistance au niveau d'une population parasitaire et de ses hôtes. Plus les tests de dépistage deviennent sensibles, par exemple avec le recours à des PCR sur des pools de larves d'helminthes, plus la mise en évidence des gènes de résistance est facilitée. Mais cela n'a rien à voir avec l'observation de terrain. Pour que les vermifugations deviennent insuffisamment actives pour contrôler le niveau d'infestation des chevaux, il faut plusieurs années et donc, une fréquence minimale d'individus chimiorésistants au sein de cette population.

Divers mécanismes ont été mis en évidence :

- des modifications comportementales : fuite face à un insecticide (cas bien décrit chez les diptères) ;
- l'augmentation des capacités de détoxification par le parasite lui-même (par la sélection d'enzymes ayant une affinité supérieure pour les antiparasitaires ou par une augmentation de leur quantité) ;
- la modification quantitative ou qualitative des récepteurs aux antiparasitaires, par exemple la mutation de la bétatubuline chez les nématodes résistants aux benzimidazoles.

La sélection de la résistance est liée à l'emploi répété des antiparasitaires et parfois, à des erreurs d'utilisation (SANGSTER, 1999) :

- la fréquence d'utilisation : plus la fréquence d'utilisation d'un antiparasitaire est élevée, plus la pression de sélection est importante. Le risque maximal est représenté par

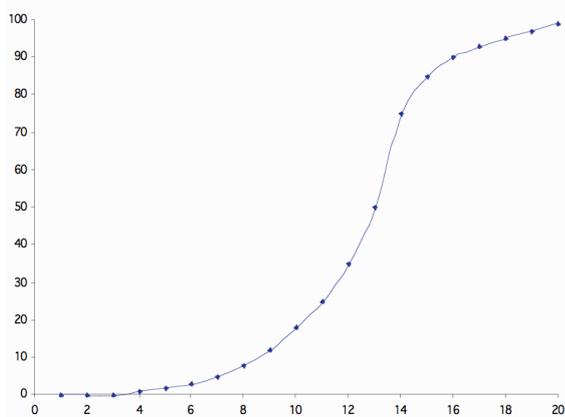


Figure 1 : Evolution du % d'allèles de résistance au cours d'un processus de sélection lent (type gènes de détoxification), (BEUGNET, 1998a)

S'agissant d'un système régi par plusieurs gènes ayant chacun plusieurs allèles, où les allèles de résistance sont généralement récessifs, l'apparition d'individus résistants est lente. Elle nécessite jusqu'à 20 ans. Ces allèles sont responsables d'une sur-expression et/ou d'une activité augmentée des systèmes enzymatiques de détoxification.

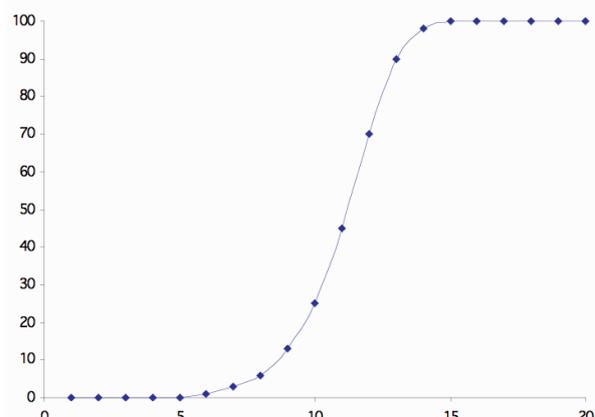


Figure 2 : Evolution du % d'allèles de résistance au cours d'un processus de sélection rapide (type gènes de récepteur)(BEUGNET, 1998a).

S'agissant d'un système régi par un nombre de gènes limité et par des allèles de résistance bien souvent co-dominants, la sélection d'individus résistants peut être rapide. Elle nécessite de 10 à 15 ans. Ces allèles sont responsables d'une modification des récepteurs des antiparasitaires qui n'agissent plus.

une utilisation à une fréquence correspondant à la période prépatente des parasites, puisque chaque génération est alors soumise à un traitement ;

- l'utilisation de procédés rémanents : certains procédés rémanents, comme les diffuseurs intra-ruminaux d'anthelminthiques ou certains "pour-on" insecticides ("pour on" = formulations pour dépôt cutané), peuvent induire une pression de sélection permanente, par rapport à des traitements discontinus. Leur usage devra donc être raisonné, ne pas intéresser tous les animaux, et laisser des "refuges" aux parasites chimiosensibles ;
- le choix de la dose : les modélisations ont prouvé que les erreurs de dosage intervenaient pour favoriser la sélection de parasites chimiorésistants. Les sous-dosages permettent la survie des individus hétérozygotes, portant des allèles de résistance co-dominants ou récessifs. Ils interviennent dans le développement de résistance polygénique, ce qui semble être le cas chez les helminthes. Il s'agit cependant de "légers sous-dosages", correspondant à l'administration de doses létales supérieures à 50 %. Les sous-dosages massifs ne sélectionnent pas les individus chimiorésistants, parce qu'ils permettent aussi la survie d'individus chimiosensibles, et que ces derniers ont généralement une meilleure capacité de reproduction que les parasites chimiorésistants ;
- les types de résistance : plusieurs types de résistance sont décrits selon les capacités des parasites à résister à une substance unique (résistance simple), à un groupe de substances ayant le même mode d'action (résistance de famille), ou à un ensemble de composés ayant des modes d'action différents (résistance multiple). La résistance est généralement de "famille". Dans ce dernier cas, il peut exister des variations d'efficacité liées à la posologie thérapeutique ou à l'affinité de certaines molécules pour leur récepteur. Ainsi, nous avons montré l'efficacité de la fluméthrine sur des tiques résistantes à la deltaméthrine, mais en quelques semaines, les parasites concernés sont également devenus résistants à la fluméthrine. En ce qui concerne les macrolides antiparasitaires, la résistance semble commune à tout le groupe : des helminthes chimiorésistants à l'ivermectine le sont à la moxidectine, pour des doses létales équivalentes. Chez les Équidés, les posologies thérapeutiques ne sont pas comparables et une dose de 0,4 mg/kg de moxidectine pourrait, dans certains essais, être efficace, alors que la posologie thérapeutique de l'ivermectine (0,2 mg/kg) ne le serait pas. Cependant, cette efficacité de terrain serait de courte durée et rapidement, tout traitement deviendra inactif, même en augmentant les dosages.

• CHIMIORÉSISTANCE DES CYATHOSTOMES AUX ANTHELMINTHIQUES

Pourquoi les petits strongles sont-ils devenus résistants aux vermifuges ?

Leur cycle évolutif peut être rapide, avec une période prépatente de 10 à 16 semaines durant la belle saison, d'où un renouvellement rapide des générations. Ceci explique la possibilité d'une sélection des parasites résistants par les traitements répétés.

En hiver, la majorité des larves, en hypobiose larvaire prolongée, persiste sous forme enkystée dans la muqueuse de la partie postérieure du tube digestif, chez le cheval. Elles sont physiologiquement moins sensibles aux anthelminthiques : vie ralentie, échanges métaboliques réduits, localisation au sein de nodules fibreux dans lesquels les anthelminthiques pénètrent peu. De plus, les anthelminthiques benzimidazoles sont résorbés et métabolisés avant de les atteindre. Ayant résisté physiologiquement aux traitements et, pour une partie d'entre elles, ayant peut-être été sélectionnées, ces larves sont à l'origine des nouvelles générations de printemps de petits strongles.

Comment dépister la résistance ?

Il est possible de réaliser un test *in vivo*, c'est à dire directement à partir des chevaux, simplement en comptant le nombre d'œufs de strongles présents dans les crottins avant et 10 à 14 jours après vermifugation (Fecal Egg Count Reduction Test) (**encadré 1 ; figures 3 et 4**).

LE PRINCIPE EST LA RÉALISATION D'UNE COPROSCOPIE ET D'UNE COPRO-CULTURE SUR DES ANIMAUX (AU MINIMUM 5 ANIMAUX PAR CLASSE D'ÂGE) N'AYANT PAS REÇU DE TRAITEMENT ANTHELMINTHIQUE DEPUIS 4 SEMAINES. CES ANIMAUX SONT EN MÊME TEMPS VERMIFUGÉS. UN DEUXIÈME EXAMEN COPROSCOPIQUE EST RÉALISÉ 10-14 JOURS APRÈS TRAITEMENT. LE CALCUL DU % DE RÉDUCTION DU NOMBRE D'ŒUFS DE STRONGLES EST RÉALISÉ.

$$\% \text{ RÉDUCTION DE PONTE} = \frac{(\text{OPG AVANT TRAITEMENT} - \text{OPG J+10}) \times 100}{\text{OPG AVANT TRAITEMENT}}$$

SI CE POURCENTAGE EST INFÉRIEUR À 90 %, IL Y A SUSPICION DE RÉSISTANCE, S'IL EST SUPÉRIEUR À 90 %, LA POPULATION DE PARASITES EST CONSIDÉRÉE COMME CHIMIOSENSIBLE.

AVANTAGES : CE TEST NE DEMANDE AUCUNE MANIPULATION PARTICULIÈRE. IL N'EST PAS CÔUTEUX ET EST TOUT À FAIT ADAPTÉ À L'EXERCICE RURAL. IL PERMET DE SUSPECTER TRÈS RAPIDEMENT UNE DIMINUTION D'EFFICACITÉ DES TRAITEMENTS.

INCONVÉNIENTS : DES VARIATIONS DANS LA PONTE DES PARASITES PEUVENT FAIRE SUSPECTER UNE RÉSISTANCE ANTHELMINTHIQUE (PROLIFÉRICITÉ ACCRUE, OU AUCUNE MODIFICATION), OU AU CONTRAIRE UNE EFFICACITÉ (ARRÊT OU DIMINUTION DE LA PONTE).

LA PROLIFÉRICITÉ DES PARASITES EST LIÉE À DE NOMBREUX FACTEURS : ESPÈCE DE PARASITE, ÂGE, NIVEAU D'INFESTATION DE L'HÔTE, RÉPONSE IMMUNITAIRE DE L'HÔTE, CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES DE L'HÔTE (GESTATION). LE NOMBRE D'ŒUFS PEUT AINSI FLUCTUER D'UNE SEMAINE À L'AUTRE.

Encadré 1 : Test de réduction du nombre d'œufs de strongles après vermifugation ("FECRT pour Faecal Egg Count Reduction Test" ; POOK et al., 2002).

Il faut observer une réduction de plus de 90 % du nombre d'œufs chez le cheval pour ne pas suspecter de résistance (CRAVEN *et al.*, 1999 ; POOK *et al.*, 2002 ; KAPLAN, 2005).

En cas de suspicion, d'autres tests, cette fois *in vitro*, en laboratoire, permettent de confirmer l'existence de parasites chimiorésistants (test d'éclosion larvaire en présence de benzimidazoles, test de développement larvaire (figure 5). Les gènes de résistance peuvent aujourd'hui être identifiés par la technique d'amplification de fragments géniques (PCR pour Polymerase Chain Reaction), à partir d'une larve d'helminthe.

Quels sont les pays concernés par les résistances ?

Aujourd'hui, la résistance des cyathostomes aux benzimidazoles a été décrite partout dans le monde. La prévalence du phénomène est très élevée aux USA, Canada, Australie, Nouvelle-Zélande et dans l'ensemble des pays de l'Union Européenne (KAPLAN, 2002).

Quelle est l'importance réelle en France ?

Une enquête du Dr. C. Collobert, dans 16 écuries normandes, indique une résistance aux benzimidazoles dans 62,5 % des écuries. L'importance du phénomène dépend certainement des régions, les chevaux étant plus vermifugés en Normandie qu'ailleurs, donc les parasites soumis à une sélection plus forte.

Quels sont les facteurs d'apparition et de développement du phénomène ?

Ils sont nombreux : tout ce qui entraîne une pression de sélection génétique sur les parasites va accélérer la sélection des résistances : mauvaise gestion des pâturages (d'où infestation des chevaux et nécessité de traitements trop fréquents) ; répétition des administrations ; non respect des posologies (que ce soit en sous ou surdosage).

De façon à mieux prévenir l'émergence des résistances ou à la diagnostiquer lorsqu'elle est présente, il est désormais indispensable de mettre en place des dépistages sur le terrain. Le test le plus simple, appelé FECRT pour "Fecal Egg Count Reduction Test" repose sur la coproscopie quantitative et le calcul de la réduction du nombre d'œufs de parasites après traitement (CRAVEN *et al.*, 1999 ; POOK *et al.*, 2002). Il se réalise à partir d'une dizaine d'animaux, comme en élevage de ruminants.

Chimiorésistance aux benzimidazoles et au pyrantel

Les benzimidazoles, par leur utilisation abondante et leur ancienneté, ont été les premiers intéressés. S'il semblait y avoir à l'origine des variations d'efficacité des benzimidazoles, avec la description de l'activité de l'oxibendazole sur des petits strongles résistants à d'autres benzimidazoles (LYONS *et al.*, 1994), il ne s'agissait en fait que d'un phénomène transitoire. On sait aujourd'hui que la résistance est de famille et touche

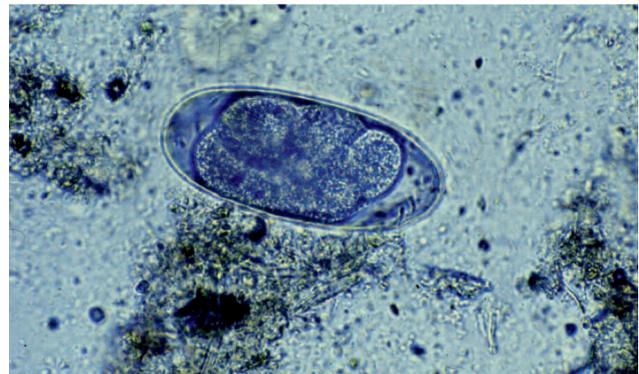


Figure 3 : œuf de petit strongle. Coproscopie microscopique après enrichissement par flottation. Ovoïde, à coque mince et lisse, contenant une morula et mesurant 75-85 x 55-65 µm.

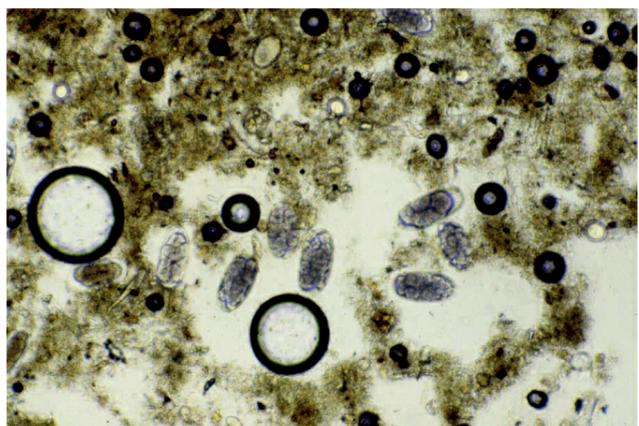


Figure 4 : œufs de petits strongles. Coproscopie microscopique après enrichissement par flottation. Objectif 10. (Ne pas confondre les œufs, ovoïdes à coque mince et lisse, contenant une morula et mesurant 75 x 55 µm environ, avec les bulles d'air bien circulaires).



Figure 5 : Larve 3 infestante de Cyathostominae. Observation lors d'un test d'inhibition de développement larvaire en présence de benzimidazoles. Le nombre de L3 est comparée au milieu nutritif sans ajout d'anthelminthique. En cas de résistance, la quantité de L3 obtenue est significativement réduite.

l'ensemble des molécules ayant un même mode d'action (SANGSTER, 1999).

Cette résistance est liée essentiellement à la sélection de mutant qui présente une bétatubuline modifiée. Les benzimidazoles perdent leur affinité pour les dimères de la bétatubuline et le réseau de microtubules peut continuer à se former, alors que normalement, ils empêchent les dimères de tubuline de s'assembler et le réseau se désorganise, ce qui entraîne la mort cellulaire. Chez les helminthes, ce sont les cellules intestinales qui sont touchées en premier.

Une détoxification enzymatique accélérée par les helminthes a aussi été mise en évidence.

Plus récemment, et probablement du fait du remplacement des benzimidazoles par le pyrantel, des résistances à ce principe actif ont été publiées. Certaines populations de cyathostomes sont d'ailleurs multirésistantes aux benzimidazoles et au pyrantel (CHAPMAN *et al.*, 1996 ; COLES, BROWN et TREMBATH, 1999).

À côté de la fréquence d'utilisation, les variations dans le dosage ont pu contribuer à la sélection de la résistance. Elles peuvent se faire lors de la vermifugation, par une mauvaise estimation du poids ou une mauvaise administration. Elles peuvent aussi être liées à la métabolisation des benzimidazoles, pouvant finalement diminuer la concentration qui sera en contact avec les parasites présents dans la lumière du tube digestif.

En effet, les benzimidazoles sont métabolisés par les chevaux après absorption digestive. Ces transformations, notamment par sulfonation et/ou conjugaison, aboutissent à la fois à des métabolites actifs et des métabolites inactifs, dont la cinétique d'élimination est variable. Le métabolisme lui-même varie selon les molécules d'origine, mais aussi selon les animaux, leur fonctionnement hépatique, leur alimentation. Toutes ces étapes peuvent être à l'origine de variations dans l'efficacité des traitements, en induisant par exemple des concentrations intestinales insuffisantes. Leurs conséquences sur la sélection des parasites résistants restent méconnues. Il est alors difficile d'estimer la part des résistances vraies dans les échecs de traitement.

À l'opposé, le pyrantel n'est pas absorbé par la paroi intestinale, son métabolisme est faible et son élimination se fait directement par voie digestive sous sa forme active. Il est actif sur les strongles adultes intestinaux et les phénomènes de résistance sont plus rares.

Chimiorésistance aux lactones macrocycliques (= avermectines/milbémycines)

Aujourd'hui, des cas de résistance sont suspectés vis-à-vis des avermectines/milbémycines (TRAWFORD, BURDEN et HODGKINSON, 2005, VAN SAMSON-HIMMELSTJERNA *et al.*, 2005). C'est l'usage raisonné de ce groupe qui permettra d'en prolonger l'utilisation. Il faudra notamment veiller à ne pas vermifuger à outrance et utiliser, à bon escient, les spécialités rémanentes qui augmentent le processus de sélection des gènes de résistance (SANGSTER, 1999 ; KAPLAN et

LITTLE, 2000).

La résistance était connue chez les trichostrongles parasites des ruminants (notamment *Teladorsagia*, *Haemonchus*, *Cooperia*) (MONAHAN et KLEI, 2002). Les mécanismes de résistance font à la fois intervenir une modification du récepteur L-glutamate aux avermectines/milbémycines (HEJMADI *et al.*, 2000), mais aussi une détoxification enzymatique des lactones macrocycliques.

Comme pour les benzimidazoles, cette détoxification fait appel à des oxydases (dont les Mixed Function Oxidase, Cytochrome P450, et la glutathion-S-transférase). Mais l'importance des Pgp (P-Glycoprotéines) ou MDR pour Multi-Drug-Resistance a été démontrée en ce qui concerne la résistance aux avermectines/milbémycines (BEUGNET *et al.*, 1997 ; SANGSTER, 1999 ; WOLSTENHOLME *et al.*, 2004). Les P-gp sont des complexes protéiques transmembranaires qui ont une activité de pompe ATP dépendante, permettant le rejet extra-cellulaire de composés considérés comme "toxiques" par le métabolisme cellulaire. Ces P-gp interviennent dans de nombreux phénomènes de résistance : des cellules cancéreuses vis-à-vis des antitumoraux ou des *Plasmodium* vis-à-vis de la chloroquine par exemple. L'activité d'efflux cellulaire des P-gp et la quantité de ces dernières sont augmentées chez les trichostrongles mutants.

Le phénomène de sélection des helminthes porteurs d'un récepteur muté ne semble pas lié à l'emploi des avermectines/milbémycines en sous-dosage. Il se pourrait même que le surdosage puisse accélérer cette sélection comme pour les gènes "super kdr" chez les diptères résistants aux pyréthrinoides (SANGSTER, 1999).

En revanche, la sélection de mutant, capable de détoxifier les lactones macrocycliques, semble, comme pour les benzimidazoles, favorisé par les sous-dosages. Ceci peut avoir lieu lors de la vermifugation par un rejet même minime de pâte lors du drogeage.

Plusieurs auteurs (COLES *et al.*, 2003 ; COLES, 2005b ; MONAHAN et KLEI, 2002 ; LOVE, 2003) ont discuté des facteurs favorisant la sélection chez les cyathostomes. À côté de la fréquence des vermifugations, deux autres éléments semblent importants :

- le premier est l'absence de refuge de sensibilité (COLES *et al.*, 2003 ; COLES, 2005b ; TRAWFORD, BURDEN et HODGKINSON, 2005). Cette notion, bien étudiée pour les trichostrongles parasites des ruminants, explique que toute génération et tout stade du parasite se trouvent en contact avec l'anthelminthique. À ce titre, les larves de cyathostome, enkystées dans la muqueuse du colon, constituent un refuge partiel pour les gènes de sensibilité. Le pyrantel étant strictement adulticide, présent dans la lumière intestinale, la faible extension de la résistance à cette molécule a été expliquée en partie par cette absence d'action larvicide. À l'inverse, certains auteurs plaident pour le fait que les molécules les plus larvicides sont celles qui exercent une pression de sélection plus forte. COLES *et al.* (2003) et KAPLAN

(2005) suggèrent même qu'au sein d'un même groupe, les molécules les plus actives sur les larves enkystées présentent un risque accru de sélection. C'est le cas de la moxidectine comparée à l'ivermectine. La première est d'ailleurs employée à plus forte posologie. Les auteurs conviennent que du fait de son action sur les larves enkystées, sa fréquence d'emploi doit être diminuée au moment où les larves s'installent (début d'hiver dans l'hémisphère Nord) ;

- le second est lié à la persistance d'activité et à la décroissance lente de la concentration (MONAHAN et KLEI, 2002 ; COLES *et al.*, 2003 ; LOVE, 2003), ce qui est couramment appelé effet de queue. Le temps de contact avec les helminthes est augmenté et surtout, le temps de contact avec des doses non létales susceptibles de sélectionner des individus hétérozygotes. Ceci a clairement été démontré chez les ruminants avec l'utilisation de diffuseurs intra-ruminaux à relargage continu ou de "pour-on". Dans le cas des chevaux, c'est actuellement la moxidectine qui présente la durée d'action la plus longue par ses caractéristiques de lipophilie et de stockage dans les tissus graisseux. Les chevaux vermifugés peuvent ne pas excréter d'œufs de strongles pendant 12 à 18 semaines parfois plus, ce qui équivaut à une rémanence vraie de 2 à 6 semaines, compte-tenu de la période prépatente des cyathostomes. L'effet de queue est encore plus long. La majorité des auteurs considèrent que la fréquence des vermifugations doit être adaptée en conséquence et réduite à 2 applications annuelles.

• CAS DES AUTRES HELMINTHES PARASITES DIGESTIFS

Un seul cas de chimiorésistance a été décrit pour *Strongylus vulgaris*. Etant donné le faible taux de renouvellement des générations ("turn over parasitaire" des anglosaxons), lié à la longueur des périodes pré-patentes, les grands strongles ne sont pas prédisposés à être sélectionnés rapidement. Pour une autre raison, liée à la résistance des œufs dans l'environnement et donc à l'existence d'un "refuge" de sensibilité, la résistance des ascarides est considérée comme peu probable.

Or depuis 5 ans, les suspicions sont de plus en plus nombreuses et deux publications récentes laissent penser qu'il s'agit bien d'une réalité (une description aux Pays-bas et une au Canada) (BOERSEMA *et al.*, 2002 ; HEARN et PEREGRINE, 2003). Comme les avermectines/milbémycines sont aujourd'hui largement employées, ces deux cas récents touchent directement les avermectines/milbémycines. Ils confirment que la chimiorésistance est susceptible d'apparaître chez tous les helminthes et que les facteurs prédisposants ne jouent finalement que sur le temps (en années), entre la première utilisation d'un groupe anthelminthique et le dépistage.

• CONCLUSIONS : QUELLE EST LA CONDUITE À TENIR ?

Comme l'indiquaient LLOYD et SOULSBY dès 1998, l'émergence des résistances est inévitable, et la question

n'est pas "de savoir si la résistance va se développer, mais quand ?". Son développement et son extension doivent être retardés par des mesures de lutte adaptée vis-à-vis des strongyloses équine. Ces mesures doivent associer des méthodes sanitaires et les vermifugations (BEUGNET, 1998b ; COLES, 2005a ; LOVE, 2003 ; PROUDMAN et MATTHEWS, 2000). Ces dernières doivent prendre en compte la nécessité de conserver l'usage des anthelminthiques.

Il faut chercher à contrôler le parasitisme digestif et non à l'éradiquer. Avec des mesures sanitaires adaptées et 3 à 4 vermifugations annuelles, il est possible de le maintenir à un taux bas. Ainsi la problématique de lutte contre les larves de cyathostomes ne se pose pas.

L'objectif est de retarder et/ou contrôler ce phénomène. Pour cela, la vermifugation ne doit pas être considérée comme un acte banal mais un véritable traitement, raisonné, fait à bon escient, c'est à dire au bon moment, avec la bonne molécule, à la bonne posologie, sur tous les animaux en même temps. Ces vermifugations doivent être associées à des mesures sanitaires (gestion des pâturages) pour en limiter la fréquence.

Certains auteurs préconisent de ne plus vermifuger "au hasard" mais après coproscopie et uniquement si le nombre d'œufs de strongles est supérieur à 150 par gramme de fèces (KAPLAN et LITTLE, 2000 ; KAPLAN, 2005 ; COLES, 2005a).

En cas de suspicion d'échecs de traitement, des coproscopies avant et 10-14 jours après administration doivent être réalisées. Les vétérinaires sont aujourd'hui bien au fait de ces procédures, très simples et peu coûteuses.

Il ne faut pas acheter la résistance avec un cheval, donc veiller à acheter des animaux déparasités (contrôle coproscopique nécessaire et certificat de vermifugation).

Le ramassage des crottins, au mieux journalier sinon bihebdomadaire, dans les boxes, mais aussi les paddocks, est une mesure très efficace pour diminuer les infestations parasitaires.

Comme dans le cas des nématodes parasites des moutons, chèvres ou bovins, la résistance est aujourd'hui un fait avéré chez les petits strongles équins en France. La vermifugation doit aujourd'hui être un acte réfléchi, qui permettra de contrôler le parasitisme, tout en évitant de sélectionner les parasites, ceci pour un coût optimal. Pour plus ample information, le lecteur pourra se reporter à plusieurs articles traitant des méthodes de contrôle des strongles et des vermifugations chez les Équidés (BEUGNET, 1998b ; BEUGNET *et al.*, 2005).

BIBLIOGRAPHIE

- BEUGNET F (1998a) *Épidémiologie et Prophylaxie de la chimiorésistance chez les parasites d'importance vétérinaire*. Thèse de Doctorat, Université Paris XII, Collège Doctoral « Sciences de la vie et de la santé », 238p.
- BEUGNET F (1998b) *Méthodes de lutte contre les strongyloses équine*. Pratique Vétérinaire Equine, **30** (120), 45 - 55.
- BEUGNET F, FAYET G, GUILLOT J, GRANGE E, DESJARDINS I, DANG H (2005) *Abrégé de Parasitologie Clinique des Équidés. Vol. 2 : Parasitoses et mycoses internes*. Ed. Kalianxis, 321p.
- BEUGNET F, GAUTHEY M, KERBOEUF D (1997) Partial *in vitro* reversal of benzimidazole resistance by the free living stages of *Haemonchus contortus* with verapamil. *Veterinary Record*, **141**, 575-576.
- BEUGNET F, KERBOEUF D (1997) Les résistance aux antiparasitaires chez les parasites des ruminants. *Point Vétérinaire*, **28**, 167-175.
- BOERSEMA JH, EYSKER M, NAS JWM. (2002) Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. *Veterinary Record*, **150**, 279-281.
- CHAPMAN MR, FRENCH DD, MONAHAN CM, KLEI TR (1996) Identification and characterization of a pyrantel pamoate resistant cyathostome population. *Veterinary Parasitology*, **66**, 205-212.
- CRAVEN J, BJORN H, BARNES EH, HENRIKSEN SA, NANSEN P (1999) A comparison of *in vitro* tests and a faecal egg count reduction test in detecting anthelmintic resistance in horse strongyles. *Veterinary Parasitology*, **85**, 49-59.
- CRAVEN J, BJORN H, HENRIKSEN SA, NANSEN P, LARSEN M, LENDAL S (1998) Survey of anthelmintic resistance on Danish horse farms, using 5 different methods of calculating faecal egg count reduction. *Equine Vet.J.*, **30**, 289-293.
- COLES GC (2005a) Responsible control of parasites in horses., *In: Cd-Rom Proceedings of WAAVP Congress 2005*, New Zealand. Communication M.7.5.
- COLES GC (2005b) Anthelmintic resistance – looking to the future : a UK perspective. *Research in Veterinary Science*, **78**, 99-108.
- COLES GC, EYSKER M, HODGKINSON J, MATTHEWS JB, KAPLAN RM, KLEI TR, SANGSTER NC (2003) Anthelmintic resistance and use of anthelmintics in horses. *Veterinary Record*, **153**, 636.
- COLES GC, BROWN SN, TREM-
- BATH CM (1999) Pyrantel resistant large strongyles in racehorses. *Veterinary Record*, **145**, 408.
- COLLOBERT-LAUGIER C (1999) Rôle du parasitisme dans les coliques du cheval: prévalence et pouvoir pathogène des principales espèces parasitaires. *Prat. Vét. Equine*, n° spéciale Coliques, **31**, 123-134.
- DRUDGE JH, LYONS ET, TOLLIVER SC (1991) Resistance of population-B equine strongyles to thiabendazole, oxfendazole, and phenothiazine (1981 to 1987). *Am. J. Vet. Res.*, **52**, 1308-1312.
- HEJMADI MV, JAGANNATHAN SJ, DELANY NS, COLES GC, WOLSTENHOLME AJ (2000) L-Glutamate binding sites of parasitic nematodes : an association with ivermectin resistance. *Parasitology*, **120**, 535-545.
- HEARN FPD, PEREGRINE AS (2003) Identification of foals infected with *Parascaris equorum* apparently resistant to ivermectin. *JAVMA*, **223** (4), 482-485.
- KAPLAN RM (2002) Anthelmintic resistance in nematode of horses. *Veterinary Research*, **33**, 491-507.
- KAPLAN RM (2005) Guidelines for diagnosis of anthelmintic resistance in nematodes of horses. *In: Proceedings of WAAVP Congress 2005*, New Zealand. Communication M.7.3, 196.
- KAPLAN R, LITTLE SE (2000) Controlling equine cyathostomes. *Compendium*, April 2000, 391-395.
- KAPLAN RM, KLEI TR, LYONS ET, LESTER G, COURTNEY CH, FRANCH DD, TOLLIVER SC, VIDYASHANKAR AN, ZHAO Y (2004) Prevalence of anthelmintic resistant cyathostomes on horse farms. *JAVMA*, **225** (6), 903-910.
- LLOYD S, SOULSBY JE (1998) Is anthelmintic resistance inevitable : back to basics ? *Equine Vet. J.*, **30**, 280-283.
- LOVE S (2003) Treatment and prevention of intestinal parasite-associated disease. *Vet. Clinics Equine*, **19**, 791-806.
- LYONS ET, DRUDGE JH, TOLLIVER SC, SWERCZEK TW, STAMPER S, GRANSTOM DE (1994) Control of cambendazole-resistant small strongyles (population S) with oxibendazole in a pony band : an 8 year field test (1984-1992). *Veterinary Parasitology*, **52**, 271-277.
- LYONS ET, TOLLIVER SC, DRUDGE JH, STAMPER S, SWERCEK TW, GRANSTOM DE (1996) Critical test evaluation (1977-1992) of drug efficacy against endoparasites featuring benzimidazole-resistant small strongyles (Population S) in Shetland ponies. *Veterinary Parasitology*, **66**, 67-73.
- MONAHAN CM, KLEI TR (2002) The use of macrocyclic lactones to control parasites of horses, *In: VERCRYUSSE J*, editor. *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy*. CABI, 464p.
- POOK JF, POWER ML, SNAGSTER NC, HODGSON JL, HODGSON DR (2002) Evaluation of tests for anthelmintic resistance in cyathostomes. *Veterinary Parasitology*, **106**, 331-343.
- PROUDMAN C, MATTHEWS J (2000) Control of intestinal parasites in horses. *In Practice*, February 2000, 90-97.
- SANGSTER N (1999) Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes : Will it occur with the avermectin/milbecins ? *Veterinary Parasitology*, **85**, 189-204.
- SHILLINGER D, HASSLINGER M-A (1994) Benzimidazole resistance in small strongyles of horses - Occurrence in Germany and strategy for avoiding resistance. *Rev.Méd.Vét.*, **145**, 119-124.
- TARIGO-MARTINIE JL, WYATT AR, KAPLAN RM (2001) Prevalence and clinical implications of anthelmintic resistance in cyathostomes of horses. *JAVMA*, **218** (12), 1957-1960.
- TRAWFORD AF, BURDEN F, HODGKINSON J (2005) Suspected moxidectin resistance in cyathostomes in two donkey herds at the donkey sanctuary, UK. *In: Cd-Rom Proceedings WAAVP Congress*, New Zealand, Communication M.7.2.
- VAN SAMSON-HIMMELSTJERNA G, FRITZEN B, SCHIEDER T, EPE C (2005) Suspected ivermectin resistance in small strongyles from the horse. *In: Cd-Rom Proceedings WAAVP Congress*, New Zealand. Communication M.7.1.
- WIRTHELERLE N, SCHNIEDER T, SAMSON-HIMMELSTJERNA G (2004) Prevalence of benzimidazole resistance on horse farm in Germany. *Veterinary Record*, **154**, 39-41.
- WOLSTENHOLME AJ, FAIRWEATHER, PRICHARD R, VAN SAMSON-HIMMELSTJERNA G, SANGSTER NC (2004) Drug resistance in Veterinary Helminths. *Trends in Parasitology*, **20**, 469-476.

