
**EFFET DU LOPERAMIDE SUR L'EFFICACITE DE L'IVERMECTINE ET DE LA
MOXIDECTINE DANS LE TRAITEMENT DES STRONGYLOSES GASTRO-
INTESTINALES CHEZ LES BOVINS EN ARGENTINE**

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2007
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Sylvie AHOUSSOU

Née le 23 Septembre 1982, à Abidjan

Directeur de thèse : M. le Professeur Philippe JACQUIET

JURY

PRESIDENT :

M. Alexis Valentin

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

M. Philippe Jacquet

M. Philippe Dorchies

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Remerciements

A notre jury de thèse

A Monsieur le Professeur A. Valentin

Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Hommage respectueux

A Monsieur le Docteur P. Jacquiet

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Parasitologie et maladies parasitaires.
Qui nous a fait l'honneur d'accepter de diriger cette thèse.
Qu'il soit assuré de notre vive reconnaissance.

A Monsieur le Professeur P. Dorchies

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Parasitologie et maladies parasitaires.
Qui a bien voulu participer à notre jury de thèse.
Qu'il soit assuré de notre gratitude.

A notre maître de stage

Le Docteur Victor Humberto Suarez

Responsable de l'unité de production ovine et coordinateur de l'aire de production animale de
l'INTA d'Anguil (La Pampa, ARGENTINE).
Qui m'a accueilli dans son unité et qui a dirigé mon travail.
Qu'il trouve ici l'expression de notre plus vive gratitude et de notre profond respect.

Aux membres du laboratoire de Parasitologie de l'INTA d'Anguil

*En particulier au Dr Silvina Cristel
Pour sa patience et sa disponibilité.
A Olga, Karina, Marietta, Fransisco, Daniel et Ariel
Pour leur accueil chaleureux.*

A Monsieur le Docteur A. Lifschitz

Pour sa disponibilité

Aux travailleurs du campo de l'INTA d'Anguil

Jorgue Gabella, Nelson, el Pelado, Tuqui, Sheila et Carlito, les deux José, et tous les autres.

A mes parents et à mes sœurs.

A mon parrain, avec toute mon admiration.

Un merci tout particulier à Ibrahim, mon compatriote-confrère, pour son aide, ses encouragements et son enthousiasme. Ta présence a été très importante pour cette fin d'étude et pour ma sauce arachide.

A Cécile, Laura, Marie, Blandine, Séverine, Aude et Anne-Laure, parce que vous êtes mes filles, parce que vous êtes folles et que votre folie m'a accompagné ces cinq dernières années comme une seconde famille.

Un clin d'œil au binôme « forever », le binôme de rêve, ...

A Maël, Jean-Baptiste, Guillaume, Solveig et à tous les autres...

A celui qui tente de me faire reconnaître Art Blacky et Wayne Shorter et à sa famille.

A Jorge et Daniella et à tous ceux qui ont contribué à faire de ce séjour en Argentine un souvenir inoubliable.

Tables des matières

Table des illustrations	13
Introduction	17
1. Présentation de l'élevage bovin argentin	19
1.1 Un pays découpé en 5 régions d'élevage	19
1.1.1. La Pampa, cœur de l'élevage allaitant.....	19
1.1.2. Le Nord Est argentin : deuxième cheptel bovin argentin.....	20
1.1.3. Le Nord Ouest argentin : une faible densité de bovins.....	21
1.1.4. La région semi-aride centrale.....	21
1.1.5. La région de la Patagonie : terre de moutons.....	22
1.2 Des exploitations de grande taille	22
1.3 Organisation des filières	23
1.3.1. La filière viande.....	23
1.3.2. La filière lait.....	24
1.4 Une forte consommation intérieure, une ouverture à l'exportation	25
1.5 Une production confrontée à la pression de la culture du soja	25
2. Les strongyloses gastro-intestinales sont un frein à la rentabilité de l'élevage bovin en Argentine	29
2.1. Rappels de morphologie et de biologie sur les nématodes digestifs des ruminants	29
2.1.1. Cycle biologique des nématodes.....	29
2.1.2. Cinq espèces de nématodes sont responsables des infestations dans la Pampa.....	31
2.2. Une dominante pathologique des élevages argentins	32

2.3.	Epidémiologie et conséquences du parasitisme par les nématodes gastro-intestinaux dans les élevages bovins pampéens.....	32
2.3.1.	Epidémiologie.....	32
2.3.1.1.	Jeunes bovins à l'engraissement.....	32
2.3.1.2.	Jeunes bovins en exploitation laitière.....	35
2.3.1.3.	Adultes.....	35
2.3.2.	Conséquences.....	35
2.3.2.1.	Les cas cliniques.....	35
2.3.2.2.	Les pertes subcliniques.....	36
3.	La lutte contre les strongyloses gastro-intestinales : une lutte fondée essentiellement sur l'utilisation des anthelminthiques en Argentine	37
3.1.	Les anthelminthiques.....	37
3.1.1.	Les benzimidazolés.....	37
3.1.1.1.	Description.....	37
3.1.1.2.	Mode d'action.....	37
3.1.1.3.	Spectre d'activité et molécules disponibles en Argentine.....	38
3.1.2.	Les imidazothiazoles.....	39
3.1.2.1.	Description.....	39
3.1.2.2.	Mode d'action.....	39
3.1.2.3.	Spectre d'activité et molécules disponibles en Argentine.....	39
3.1.3.	Les lactones macrocycliques.....	40
3.1.3.1.	Description.....	40
3.1.3.2.	Mode d'action.....	41
3.1.3.3.	Spectre et molécules disponibles en Argentine.....	42

3.2. La résistance aux anthelminthiques	43
3.2.1. Définition	43
3.2.2. Mécanismes de résistance	43
3.2.2.1. Mécanisme général	43
3.2.2.2. Les mécanismes spécifiques	43
3.2.2.3. Les mécanismes non spécifiques	45
3.2.2.3.1. <i>La détoxification cellulaire : un processus en trois étapes</i>	45
3.2.2.3.2. <i>Le système MDR : les transporteurs ABC</i>	46
3.2.2.3.2.1. Les MRP ou Multi drug Resistance associated Proteins »	46
3.2.2.3.2.2. Les glycoprotéines P (P-gP)	47
3.3. Méthodes de détection de la résistance	49
3.3.1. Tests <i>in vivo</i>	49
3.3.1.1. Bilan parasitaire	49
3.3.1.2. Test de réduction de l'excrétion fécale (Fecal Egg Count Reduction: FECRT)	49
3.3.2. Tests biologiques	50
3.3.2.1. Test d'éclosion des œufs (Egg Hatch Assay: EHA)	50
3.3.2.2. Test de paralysie des larves	50
3.3.2.3. Test d'inhibition du développement larvaire	50
3.3.3. Tests biochimiques	50
3.3.3.1. Test de couplage à la tubuline	50
3.3.3.2. Le dosage colorimétrique des estérases	50
3.3.4. Tests moléculaires	51

3.4.	La résistance s'étend en Amérique Latine et en Argentine	53
3.4.1.	Situation en Argentine.....	53
3.4.1.1.	Les espèces de nématodes ayant développé une résistance.....	54
3.4.1.2.	La résistance dans la Pampa.....	54
3.4.1.3.	Impact de l'apparition de la résistance pour la production bovine.....	55
3.4.2.	Situation dans le reste de l'Amérique Latine.....	55
3.5.	Modes d'élevage favorisant l'apparition de la résistance	56
3.5.1.	Une utilisation massive de l'ivermectine.....	56
3.5.2.	Une fréquence élevée d'application de traitements anthelminthiques.....	56
4.	Solutions pour remédier à l'inefficacité des traitements anthelminthique	59
4.1.	Découvrir de nouvelles molécules anthelminthiques	59
4.2.	Augmenter l'efficacité des molécules anthelminthiques actuelles	60
4.2.1.	En agissant sur l'hôte	60
4.2.1.1.	Augmenter l'efficacité de l'anthelminthique par des moyens physiologiques	60
4.2.1.2.	Augmenter l'efficacité de l'anthelminthique par des moyens chimiques	61
4.2.2.	En agissant sur les nématodes via la glycoprotéine P.....	61
4.2.2.1.	Le vérapamil.....	61
4.2.2.1.1.	<i>Le vérapamil augmente l'efficacité des anthelminthiques et permet une réversion de la résistance</i>	61
4.2.2.1.2.	<i>Le vérapamil augmente aussi la biodisponibilité des anthelminthiques chez l'hôte</i>	63
4.2.2.1.3.	<i>Obstacles à l'utilisation du vérapamil dans la réversion de la résistance aux anthelminthiques (Von Samson-Himmelstjerna et Blackhall, 2005)</i>	63
4.2.2.2.	Autres molécules modulatrices de la glycoprotéine P.....	64

4.2.3.	Exemple du loperamide.....	64
4.2.3.1.	Propriétés pharmacocinétiques de la moxidectine et de l'ivermectine.....	65
4.2.3.1.1.	<i>Une distribution tissulaire large.....</i>	65
4.2.3.1.2.	<i>Une excrétion biliaire et intestinale majoritaire.....</i>	66
4.2.3.2.	Le loperamide augmente la biodisponibilité de la moxidectine et de l'ivermectine chez l'hôte.....	66
4.2.3.2.1.	<i>Moxidectine</i>	66
4.2.3.2.2.	<i>Ivermectine.....</i>	68
4.2.3.3.	Mécanismes d'action du loperamide.....	69
5.	Etude de la modification de l'efficacité du traitement à la moxidectine et à l'ivermectine, apportée par l'administration concomitante de loperamide, à des bovins, contre des souches de nématodes résistants.....	73
5.1.	Objectifs détaillés de l'étude.....	73
5.2.	Matériels et méthodes.....	73
5.2.1.	Matériels.....	73
5.2.2.	Méthodes.....	75
5.2.2.1.	Schéma expérimental.....	76
5.2.2.2.	Réalisation des mesures.....	78
5.2.2.2.1.	<i>Coprosopie ou comptage d'œufs dans les fèces.....</i>	78
5.2.2.2.2.	<i>Coproculture</i>	79
5.2.2.3.	Calculs de l'efficacité.....	81
5.2.2.3.1.	<i>Méthode FECRT (Fecal Egg Count Reduction Test).....</i>	81
5.2.2.3.2.	<i>Méthode L3CRT (L3 Count Reduction Test.....</i>	82

5.3.	Résultats	83
5.3.1.	Résultats des comptages d'œufs à J0 et J14.....	83
5.3.2.	Résultats du FECRT.....	84
5.3.3.	Résultats du L3CRT.....	85
5.3.3.1.	Efficacité de l'ivermectine.....	85
5.3.3.2.	Efficacité de l'ivermectine associée au loperamide.....	85
5.3.3.3.	Efficacité de la moxidectine.....	86
5.3.3.4.	Efficacité de la moxidectine associée au loperamide.....	86
5.3.3.5.	Efficacité de l'albendazole.....	87
5.3.3.6.	Efficacité du lévamisole.....	87
5.3.4.	Evolution de l'efficacité des traitements anthelminthiques durant trois ans à Nueva Castilla.....	88
5.4.	Discussion	89
5.4.1.	Infestation des taurillons.....	89
5.4.2.	Evolution de l'excrétion fécale dans le groupe témoin.....	89
5.4.3.	Sensibilité de la méthode FECRT, L3CRT.....	90
5.4.4.	Evolution de l'efficacité des anthelminthiques au cours des trois dernières années à Nueva Castilla.....	90
5.4.4.1.	Résistance aux lactones macrocycliques.....	90
5.4.4.2.	Résistance aux benzimidazolés.....	91
5.4.4.3.	Résistance au lévamisole.....	92
5.4.5.	Modification de l'efficacité de la moxidectine et de l'ivermectine par la co-administration de loperamide.....	93
5.4.6.	Conseils de traitements donnés par l'INTA pour l'année 2006-2007.....	94
	Conclusion	97
	Bibliographie	99

Table des illustrations

Liste des cartes

Carte 1 : les régions de l'Argentine : la région principale d'élevage est située dans la région de la Pampa en vert clair sur la carte (source : site Internet de l'Instituto Primo Capraro) P.26

Carte 2 : localisation géographique de la ville de Trenque Lauquen près de laquelle se situe l'exploitation où a lieu l'étude (source : site Internet de l'Instituto Primo Capraro) P.74

Listes des figures

Figure 1: schéma du cycle biologique des nématodes (Jacquet et Kerboeuf, 2000). P.30

Figure 2 : variation saisonnière de la moyenne de l'abondance en vers (Suarez, 1990) (Ost.L4i signifie larves inhibées du genre *Ostertagia*). P.33

Figure 3 : structure chimique du lévamisole (Martin, 1997). P.39

Figure 4: structure de la molécule d'ivermectine et de la molécule de moxidectine. Les deux structures sont superposables, la molécule d'ivermectine possède un groupement disaccharide en plus (Shoop *et al.*, 1995). P.40

Figure 5: structure chimique du vérapamil (Lankford et Bais, 1995). P.62

Figure 6: comparaison entre les concentrations plasmatiques de la moxidectine administrée seule (MXD alone) ou coadministrée avec du loperamide (MXD+LP), à des bovins entre le 3^{ème} et le 9^{ème} jour après traitement. L'étoile signifie une différence significative entre les deux concentrations au risque $\alpha=5\%$ (Lifschitz *et al.*, 2002). P.67

Figure 7 : pic de concentration de moxidectine éliminée dans les fèces après administration de moxidectine seule (MXD alone) ou associée au loperamide (MXD+LP). L'étoile signifie une différence significative entre les deux concentrations au risque $\alpha=5\%$ (Lifschitz *et al.*, 2002). P.68

Figure 8 : schéma récapitulatif des mécanismes potentiels d'action du loperamide sur les propriétés pharmacocinétiques de la moxidectine et de l'ivermectine (Lifschitz *et al.*, 2002). P.70

Figure 9 : dessin d'une larve infectante de nématodes de la famille des Trichostrongylidés (dessin : Van Wyk *et al.*, 2004). P.80

Liste des tableaux

Tableau 1 : localisation dans l'hôte de nématodes responsables des infestations de bovins dans la Pampa et période de plus forte prévalence (Suarez, 1990). P.31

Tableau 2 : avantages et inconvénients des différents tests disponibles pour la mise en évidence de la résistance des nématodes aux anthelminthiques. (BZ : Benzimidazolés LV : lévamisole) (Jacquet, 1999 ; Coles *et al.*, 2006). P.52

Tableau 3 : cas décrits de résistance aux anthelminthiques dans les élevages bovins en Argentine (Anziani et Fiel 2005). P.54

Tableau 4 : répartition des animaux de l'étude dans les différents groupes et traitements administrés. P.76

Tableau 5 : moyenne des résultats de comptages d'œufs des groupes IV, IV/LP, MX, MX/LP, et NT. L'unité est le nombre d'œuf par gramme de fèces. P.83

Tableau 6 : résultats de l'efficacité des traitements obtenus pour les groupes IV, IV/LP, MX, MX/LP selon les 3 méthodes de calcul. Les résultats sont en pourcentage. P.84

Tableau 7 : moyennes du nombre de larves des différents genres obtenus après coprocultures des fèces prélevées à J0, pour tous les animaux quelque soit le groupe. Les résultats sont exprimés en nombre de larve par gramme de fèces. P.85

Tableau 8: résultats du test L3CRT pour l'ivermectine. Les résultats sont en pourcentage. P.85

Tableau 9 : résultats du test L3CRT pour l'ivermectine associée au lopéramide. Les résultats sont en pourcentage. P.85

Tableau 10 : résultats du test L3CRT pour la moxidectine. Les résultats sont en pourcentage. P.86

Tableau 11 : résultats du test L3CRT pour la moxidectine associé au lopéramide. Les résultats sont en pourcentage. P.86

Tableau 12 : résultats du test L3CRT pour l'albendazole. Les résultats sont en pourcentage. P.87

Tableau 13 : résultats du test L3CRT pour le lévamisole. Les résultats sont en pourcentage. P.87

Tableau 14 : récapitulatif de l'évolution de l'efficacité de l'ivermectine, de la moxidectine, des benzimidazolés et du lévamisole évaluée par les méthodes FECRT et L3CRT. P.88

Introduction

La lutte contre les nématodes gastro-intestinaux des ruminants est compromise par le développement de la résistance aux anthelminthiques. Déjà très répandu dans les élevages ovins du monde entier, le phénomène de résistance est en expansion dans les élevages bovins de certains pays, dont l'Argentine.

La mise au point de nouvelles molécules anthelminthiques est peu probable en raison de la faible rentabilité du marché du médicament pour les animaux de rente. Pour faire face à la résistance, une autre possibilité est d'augmenter l'efficacité des anthelminthiques actuels. Nous avons testé les modifications d'efficacité de l'ivermectine et de la moxidectine, apportées par la co-administration de lopéramide, à des bovins, dans une exploitation située dans la Pampa en Argentine.

Dans un premier temps, nous vous présenterons l'élevage bovin argentin, puis, nous verrons que le parasitisme par les strongles gastro-intestinaux est un problème majeur de cet élevage.

Ensuite, nous aborderons les moyens de lutte contre ces parasites et nous verrons que les anthelminthiques occupent la place principale. Nous décrirons les mécanismes qui permettent aux nématodes de survivre aux traitements et l'étendue du phénomène de résistance en Argentine.

Enfin, nous présenterons notre étude dont les objectifs étaient d'évaluer l'action du lopéramide, sur l'efficacité des traitements à l'ivermectine et à la moxidectine, administrés à des bovins parasités par des nématodes résistants à ces deux anthelminthiques.

1. Présentation de l'élevage bovin argentin

L'Argentine est un pays situé en Amérique Latine. Il est limité au Nord par l'Uruguay, le Brésil, le Paraguay et la Bolivie, à l'Ouest par le Chili et à l'Est par l'Océan Atlantique. Sa superficie est de 2,8 millions de kilomètres carrés soit cinq fois la superficie de la France. Le territoire est aride à semi-aride, avec deux tiers des terres qui reçoivent moins de 600 mm d'eau par an. Il est découpé en 26 provinces qui possèdent chacune une ville principale, comme indiqué sur la carte 1.

La part de l'agriculture dans l'économie est très importante puisqu'elle représente 15% du PIB avec les industries agro-alimentaires, soit le triple de sa valeur en France. La part de l'élevage est de 1,8 % du PIB (Institut de l'Elevage, 2006).

Selon les informations présentées sur le site officiel du ministère argentin de l'économie, le cheptel bovin argentin est constitué de 55 millions et 150 milles têtes de bétail. On comptait 322 000 exploitations d'élevage bovin en 2002 et 104 millions d'hectares consacrés au pâturage.

Le territoire est divisé en 5 régions géo-climatiques qui déterminent 5 régions d'élevage ne suivant pas le découpage administratif. Ces cinq régions sont dans l'ordre d'importance, la Pampa, le Nord-Est argentin, le Nord-Ouest argentin, la région semi-aride centrale et enfin la région de la Patagonie.

1.1 Un pays découpé en 5 régions d'élevage

1.1.1. La Pampa, cœur de l'élevage allaitant

Il s'agit de la région d'élevage par excellence. Elle regroupe la province de Buenos Aires, le Sud de la province de Córdoba, le Sud de la province de Santa Fe, le Sud de la province d'Entre Rios et l'Est de la province de la Pampa.

Cette région possède les meilleures conditions agro-écologiques du pays pour la production de viande et détient ainsi 62 % du cheptel national avec 34 millions et 200 milles têtes de bétail.

Les activités principales sont le naissage, le sevrage et l'engraissement grâce au climat et à la qualité du sol qui permettent la production de pâtures à haute valeur nutritive.

L'alimentation est constituée de fourrage provenant de pâtures naturelles et de pâtures cultivées, pérennes ou annuelles. L'utilisation de concentrés alimentaires énergétiques ou protéiques est limitée en comparaison de l'élevage européen.

Les races prédominantes dans la région pampéenne sont les races britanniques Santa Gertrudis et Aberdeen Angus et on retrouve quelques animaux croisés zébus.

Le niveau de production varie entre 70 et 150 kg de viande par hectare jusqu'au sevrage et entre 180 et 400 kg de viande par hectare au cours de l'engraissement. Ce niveau est inférieur au potentiel régional selon le ministère de l'économie et ce en raison d'un déficit de gestion de l'alimentation, de la reproduction et du niveau sanitaire.

Comparées aux exploitations européennes, celles rencontrées dans la Pampa sont de grande taille et possèdent une grande surface de pâture : dans la Pampa inondable par exemple la taille moyenne des exploitations est de 550 ha mais les moyennes cantonales vont de 420 à 1100 ha (Institut de l'Élevage, 2006).

1.1.2. Le Nord Est argentin : deuxième cheptel bovin argentin

Le Nord Est Argentin est composé des provinces de Corrientes, Misiones, du Nord de Santa Fe, du Nord de Entre Rios, de l'Est de Chaco et de l'Est de Formosa. Il héberge 23 % du cheptel avec environ 12 millions de têtes.

Dans cette région, on retrouve des exploitations intégralement consacrées à l'élevage de bovins, des exploitations d'élevage mixte de bovins et ovins et des exploitations ayant une activité d'élevage et de production agricole. Dans cette région prédominent les animaux croisés zébus. L'alimentation est composée en grande majorité de pâtures naturelles.

Le niveau de production moyen varie entre 30 et 50 kg de viande par hectare. Les meilleurs producteurs parviennent à un niveau de 50 à 90 kg de viande par hectare.

C'est la seule région, autre que la région pampéenne, qui est autosuffisante pour la production de viande, et qui ne dépend pas de cette dernière pour son approvisionnement.

1.1.3. Le Nord Ouest argentin : une faible densité de bovins

La région du Nord Ouest Argentin est constituée des provinces de Jujuy, Salta, Tucuman, Catamarca, La Rioja, Santiago Del Estero, du Nord de Córdoba, de l'Ouest de Chaco et de l'Ouest de Formosa. Cette région héberge environ 4 millions de têtes de bovins.

C'est la région dont la production est la plus déficiente et qui dépend le plus de la région de la Pampa pour son approvisionnement : en effet, la gestion limitée du fourrage et de l'élevage en général conduisent à une production de viande par hectare de 5 à 50 kg seulement.

L'eau est la principale limite et l'alimentation est uniquement constituée de graminées d'été auxquelles s'ajoutent parfois des branches et des fruits. La charge animale sur les pâtures est faible avec une moyenne de 0,25 bovin par hectare (Institut de l'Elevage, 2006)

La race prédominante est une race rustique dont l'origine remonte aux premières importations de bovins andalous par Christophe Colon lors de son deuxième voyage en Amérique : il s'agit de la race de bovins « criollos ». Dans cette région l'élevage, se limite au naissage de bovins et à l'élevage de caprins.

La majorité des exploitations est de type familial avec une prédominance d'élevage sans infrastructures. De nombreuses pâtures sont non clôturées et utilisées de façon commune par plusieurs familles.

1.1.4. La région semi-aride centrale

La région semi-aride centrale regroupe les provinces de San Juan, Mendoza, San Luis et l'Ouest de la Pampa

Cette région héberge un système de production principalement tourné vers le naissage grâce à l'utilisation de pâtures naturelles.

La faible disponibilité en fourrage, la gestion limitée de l'alimentation, de la reproduction et du niveau sanitaire conduisent à un niveau de production peu élevé : de 5 à 30 kg de viande par hectare.

En effet, le déficit d'entretien des pâtures naturelles (invasion par les arbustes et croissance démesurée) limite la quantité de fourrage disponible. Le déficit de diagnostic de gestation et de rationalisation des périodes de monte associé à une forte prévalence de maladies vénériennes se traduit par une faible efficacité de la reproduction.

1.1.5. La région de la Patagonie : terre de moutons

La région de la Patagonie est constituée de toute la zone comprise entre Neuquen et la Terre de Feu. Elle s'étend sur 77 millions d'hectares et héberge environ 760 000 bovins.

Cette région est davantage vouée à l'élevage des petits ruminants et détient les deux tiers du cheptel ovin argentin soit 8 millions de têtes, et un million de caprins.

L'activité d'élevage se concentre dans la zone délimitée par le Monte oriental (nord-est de la région) et le Rio Negro au Sud. On la retrouve aussi dans la région de la précordillère et plus particulièrement à Neuquen. C'est avant tout une zone de naissance qui fournit les exploitations d'engraissement de la Pampa. Les densités sont inférieures à 0,07 bovins par hectare

C'est la seule région productrice de viande sans fièvre aphteuse. Elle joue en cela un rôle important pour l'élevage argentin même si le niveau de production reste bas comparé à celui de la région pampéenne.

Le faible niveau technologique des élevages ne permet pas de tirer profit des atouts de la région notamment la possibilité d'arroser les cultures dans les vallées du Rio Negro et du Rio Colorado. L'alimentation repose en partie sur l'utilisation de sous-produits de l'industrie fruitière.

1.2 Des exploitations de grande taille

Les exploitations agricoles argentines sont de très grande taille comparée aux exploitations agricoles européennes. Ceci est encore plus vrai pour les élevages : en 1997, les élevages de grande taille (plus de 200 animaux) qui correspondaient à 23 % des élevages détenaient 80 % du cheptel. Les 9500 « estancias » de plus de 1000 têtes détenaient à elles seules 41 % du cheptel national (Institut de l'Élevage, 2006).

Contrairement à ce qu'on observe en Europe, les animaux sont élevés à l'extérieur tout au long de l'année. Le travail d'élevage s'appuie fortement sur l'utilisation de chevaux pour la manipulation et le déplacement du bétail.

1.3 Organisation des filières

D'après l'enquête nationale sur l'élevage et l'agriculture effectuée en 2001 dans 9 provinces détenant 90 % du cheptel national (Institut de l'Elevage, 2006) :

- 56 % du cheptel était détenu par des naisseurs,
- 9 % du cheptel était en repousse,
- 23 % en engraissement,
- et 9 % en système laitier.

Le cheptel bovin est donc majoritairement destiné à la production de viande.

1.3.1. La filière viande

Les exploitations de production de viande ont des noms qui varient en fonction de leur activité principale : ainsi, on appelle « cria » les exploitations spécialisées dans le naissage, « recria » ou « recria-ivernada » les exploitations spécialisées dans l'engraissement depuis le sevrage jusqu'à 24 mois.

Les races employées sont des races britanniques : Aberdeen Angus, Santa Gertrudis, Hereford en majorité mais aussi Shorton et quelques bovins limousins et charolais. Ces races ont été retenues pour leur petite taille afin de limiter les interventions lors des vêlages, puisque les animaux sont élevés dans des troupeaux de grande taille sur des pâturages très vastes. De plus, les habitudes de consommation privilégient les petites carcasses (450 kg) avec beaucoup de gras de couverture, exigences satisfaites uniquement par les races précoces comme les races britanniques. Au Nord du pays on trouve également des animaux croisés bovins/zébus. Ainsi, on trouve des Brangus (3/8^{ème} de sang zébus et 5/8^{ème} de sang Angus) et des Braford (3/8^{ème} de sang zébu et 5/8^{ème} de sang Hereford). Ces animaux ont l'avantage de mieux résister au parasitisme et à la dureté des herbes tropicales

Le système le plus répandu parmi les exploitations de « recria-ivernada » est le système mixte élevage/culture.

Les animaux naissent au printemps (majorité des naissances entre Août et fin Octobre) et sont sevrés à l'automne lorsqu'ils ont entre 6 et 9 mois.

Certaines exploitations effectuent le naissage et l'engraissement : on parle de cycle complet. La majorité des exploitations cependant achète les taurillons au moment de leur sevrage et réalise uniquement l'étape d'engraissement.

L'engraissement se fait sur des pâtures alternant entre pâtures pérennes (luzerne pure ou associée à des graminées), « verdeos » (cultures saisonnières de céréales d'hiver ou d'été ; ils sont appelés « verdeos » car ce sont les seuls champs de couleur verte qui contrastent avec le reste du paysage à cette période de l'année) et « rastrojos » (champs après la récolte). Après le sevrage, l'étape d'engraissement dure environ 1 an. Les animaux sont abattus lorsqu'ils ont entre 22 et 24 mois, c'est-à-dire à l'automne de l'année suivante.

1.3.2. La filière lait

Les exploitations laitières s'appellent des « tambos » : la race utilisée pour la production de lait est la race Holstein, mais on observe, ces dernières années, une augmentation du nombre d'animaux de race Jersiaise. Cette race est appréciée pour sa teneur plus élevée en matières utiles dans le lait. Le renouvellement du troupeau est assuré par les femelles nées sur l'exploitation alors que les mâles sont vendus après le sevrage à des exploitations d'engraissement.

Les vêlages ont lieu entre Mars et Août (automne hiver), et les animaux commencent le pâturage en Octobre c'est-à-dire en été.

Le cheptel laitier a été la principale victime de l'expansion des cultures du soja et de la crise économique des années 2000-2001. En 2003 on ne comptait plus que 12 000 exploitations laitières au lieu de 20 800 en 2000 (Institut de l'Elevage, 2006). Le cheptel laitier était de 2,13 millions de vaches laitières en 2003.

1.4 Une forte consommation intérieure, une ouverture à l'exportation

La consommation intérieure de viande était de 61 kg de viande de bœuf par habitant et par an en 2003, soit près de trois fois la consommation française (d'après les chiffres sur la consommation française en 2005 indiqués sur le site du centre d'information des viandes). Le déficit de production de certaines régions entraîne une circulation des produits à l'intérieur du territoire mais la circulation est aussi tournée vers l'extérieur.

Une épidémie de fièvre aphteuse avait provoqué la fermeture des marchés extérieurs en 2001-2002, mais depuis Février 2002, l'exportation a repris. L'Union Européenne représente 55% des recettes d'exportations. Le Chili, Israël, le Brésil et les Etats-Unis font également partie des pays destinataires. Les animaux destinés à l'exportation sont les animaux les plus lourds (Institut de l'Elevage, 2006).

1.5 Une production confrontée à la pression de la culture du soja

La culture du soja a explosé depuis 1996, on appelle ce phénomène le « boom du soja » : il est dû aux niveaux exceptionnels atteints par les prix internationaux du soja cette année-là.

A cause de sa forte rentabilité, cette culture est privilégiée par les agriculteurs, et concurrence l'activité d'élevage. Les élevages sont repoussés dans les zones moins favorables à l'agriculture c'est-à-dire vers les zones plus arides tandis que la culture du soja progresse dans les zones irriguées comme la province de Buenos Aires, Santa Fe et le Sud-Est de Cordoba. Dans ces provinces, la culture du soja est deux fois plus rentable que l'engraissement, et la superficie occupée par les cultures est passée de 5,6 millions d'hectares en 1996 à 9,7 millions d'hectares en 2002-2003 (Institut de l'Elevage, 2006).

Un des moyens d'augmenter la rentabilité des élevages bovins a été l'intensification de la production avec notamment une augmentation de la concentration des bovins sur les pâtures (Suarez, 2002). L'augmentation de la concentration des animaux sur la pâture contribue à accentuer certains problèmes sanitaires comme celui des nématodes des bovins.



Carte 1 : les régions de l'Argentine : la région principale d'élevage est située dans la région de la Pampa en vert clair sur la carte. (Source : site Internet de l'Instituto Primo Capraro).

L'élevage argentin est du type extensif. Il est concentré dans la région de la Pampa qui est propice à la production de fourrage de haute valeur nutritive. La filière la plus importante est la filière viande. Les animaux sont élevés en grands troupeaux qui pâturent sur de grands espaces toute l'année.

Les races utilisées sont les races britanniques Santa Gertrudis et Aberdeen Angus. Les limites principales de l'élevage sont la sécheresse et le déficit de gestion de l'alimentation et de la reproduction. L'activité d'élevage doit faire face à la menace de l'expansion des cultures de soja plus lucratives.

2. Les strongyloses gastro-intestinales sont un frein à la rentabilité de l'élevage bovin en Argentine.

Les strongyloses gastro-intestinales représentent une affection parasitaire majeure de l'élevage bovin dans le monde en général, et en Argentine en particulier. Elles sont causées par des vers parasites appartenant au groupe des vers ronds : les nématodes.

2.1. Rappels de morphologie et de biologie sur les nématodes digestifs des ruminants

Les nématodes gastro-intestinaux des bovins en Argentine appartiennent à l'ordre des Strongylida, et à la famille des Trichostrongylidés.

2.1.1. Cycle biologique des nématodes

Les cycles biologiques des différentes espèces de Trichostrongylidés sont semblables : directs, monoxènes (c'est-à-dire qu'au cours du cycle, les vers ne parasitent qu'un seul hôte) et composés d'une phase libre et d'une phase parasite. Le déroulement du cycle est le suivant (Melhorn, Duwel et Raether, 1993) :

- **La phase libre** : elle a lieu sur la pâture. Les œufs de nématodes rejetés dans les fèces se développent et se transforment pour donner une larve L1 puis une larve L2 et enfin une larve L3 qui est la forme infestante (si les larves L1 et L2 sont ingérées, elles sont digérées sans parvenir à s'installer dans l'hôte). La larve L3 pénètre dans l'hôte lorsque celui-ci consomme l'herbe de la pâture, c'est le début de la phase parasitaire.
- **La phase parasitaire** : une fois dans le tube digestif, la larve L3 poursuit son développement généralement à l'abri, enfouie dans une glande de la muqueuse digestive ou à l'intérieur de l'épithélium. Le développement conduit à la larve L4 puis au stade L5 ou pré-adulte qui évolue pour donner l'adulte. Cette évolution en adulte ne dure que quelques semaines, mais dans certaines conditions, les larves de certaines espèces ont la capacité de suspendre leur développement.

Les larves persistent dans la muqueuse sous une forme de vie ralentie appelée L4 inhibée, pour une période de 3 à 5 mois. Ce phénomène serait un mécanisme d'adaptation qui permettrait aux vers de se maintenir pendant les périodes de l'année défavorables pour les formes préparasitaires dans le milieu extérieur. Ainsi, ce phénomène est observé en automne/hiver dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord et pendant les périodes estivales dans l'hémisphère Sud. Enfin, l'adulte vit généralement dans la lumière du segment digestif qu'il parasite. Les mâles et les femelles copulent puis les femelles pondent de nombreux œufs qui sont éliminés dans les fèces et se retrouvent sur la pâture. Ainsi recommence la phase libre.

Les étapes du cycle sont rappelées sur la figure 1 :

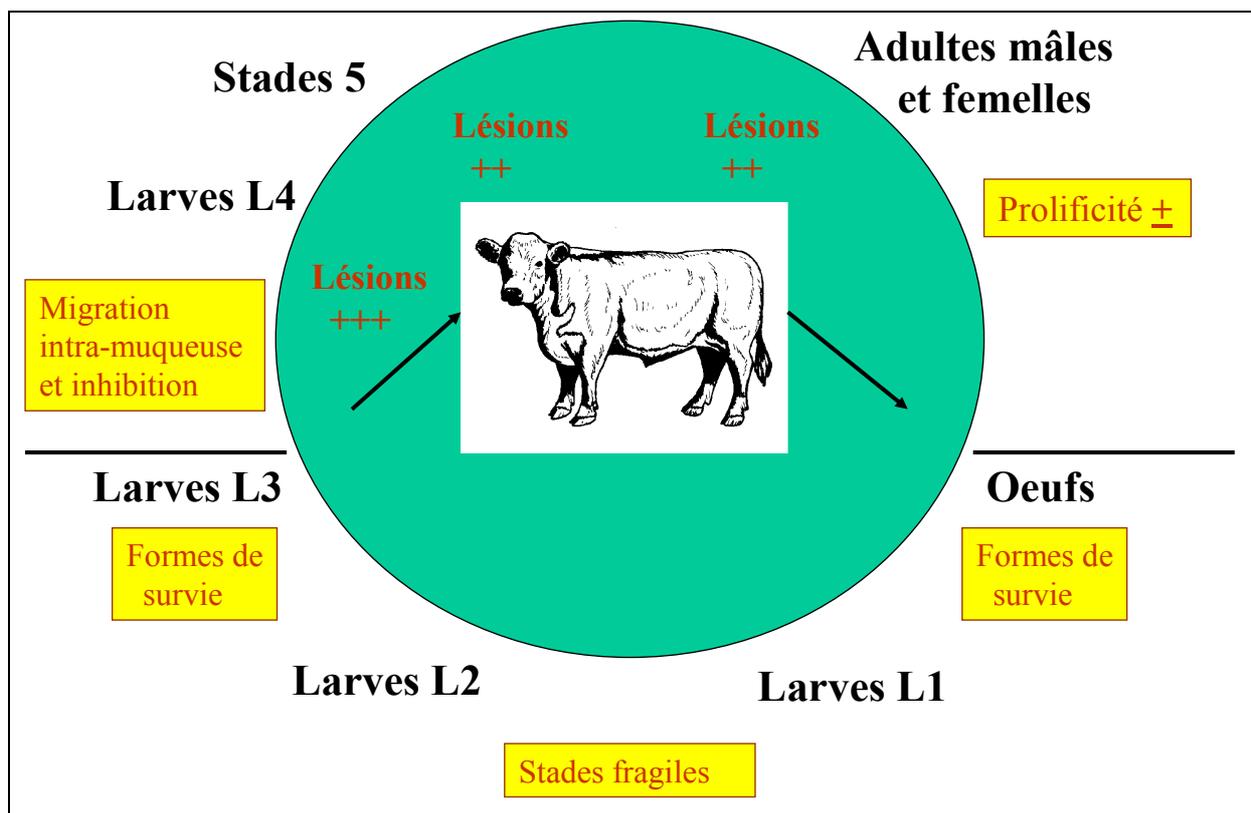


Figure 1: schéma du cycle biologique des nématodes (Jacquiet et Kerboeuf, 2000).

2.1.2. Cinq espèces de nématodes sont responsables des infestations dans la Pampa

La Pampa étant la région principale d'élevage et la région où nous avons réalisé notre étude, nous nous limiterons à la description des nématodoses bovines dans cette partie de l'Argentine. D'après les informations collectées dans la bibliographie, cinq espèces de Trichostrongylidés parasitent les bovins dans la Pampa (Suarez, 1990) :

- *Ostertagia ostertagi* : cette espèce est la plus fréquente et la plus pathogène. Elle est responsable, en association avec les autres espèces, de l'apparition de diarrhée, d'amaigrissement, d'anorexie et d'anémie. Dans cette espèce, les larves ont la capacité d'inhiber leur développement au stade L4 chez l'hôte, lorsque les conditions environnementales sur la pâture sont défavorables au développement et à la survie des formes de vie libre.
- *Haemonchus placei*
- *Cooperia oncophora* et *Cooperia punctata*
- *Trichostrongylus axei*

Pour chacune de ces cinq espèces, la localisation chez l'hôte et la période de l'année où ils sont le plus fréquents sont rappelés dans le tableau 1 :

Tableau 1 : localisation dans l'hôte des nématodes responsables des infestations de bovins dans la Pampa et période de plus forte prévalence (Suarez, 1990).

ESPECES DE NEMATODES	LOCALISATION	PERIODE DE L'ANNEE
<i>Ostertagia ostertagi</i>	Caillette	Toute l'année
<i>Haemonchus placei</i>	Caillette	Automne/hiver
<i>Cooperia oncophora</i> et <i>Cooperia punctata</i>	Intestin grêle	Premier automne/hiver de vie
<i>Trichostrongylus axei</i>	Caillette	Fin du premier été et deuxième automne/hiver de vie

2.2. Une dominante pathologique des élevages argentins

En 2004, Suarez et Miranda réalisent une enquête sur 350 élevages dans le Nord de la Province de la Pampa. Lorsque l'on demande à des éleveurs si les nématodoses digestives représentent un problème majeur de leur élevage, 94% d'entre eux répondent par l'affirmative. Lorsqu'on leur demande le problème sanitaire principal de leur exploitation, 30% répondent les nématodoses gastro-intestinales (Suarez et Miranda, 2004). Ces chiffres traduisent la forte importance accordée par les éleveurs à cette pathologie parasitaire.

2.3. Epidémiologie et conséquences du parasitisme par les nématodes gastro-intestinaux dans les élevages bovins pampéens.

Le cycle des nématodes comprenant une phase de vie libre sur la pâture, et une phase de vie parasitaire à l'intérieur de l'hôte, leur présence et leurs conséquences dépendent à la fois de facteurs liés à l'hôte, comme l'immunité et de facteurs liés à l'environnement, comme l'humidité et la température.

2.3.1. Epidémiologie

2.3.1.1. Jeunes bovins à l'engraissement

Entre 1981 et 1986, Suarez étudie la dynamique des stades parasitaires des nématodes, pendant l'engraissement, dans deux exploitations de « recrià-ivernada » : une située dans la Pampa semi-aride (station expérimentale de l'INTA d'Anguil) et l'autre située dans la Pampa subhumide (Trenqué Lauquèn et Villegas) (Suarez, 1990). Pour cela il compte les nématodes présents dans le tube digestif de taurillons à l'engraissement.

La figure 2 représente l'évolution qualitative et quantitative au cours de l'année de l'infestation par les nématodes. Les animaux sacrifiés étaient des taurillons à l'engraissement, du sevrage jusqu'à 24 mois.

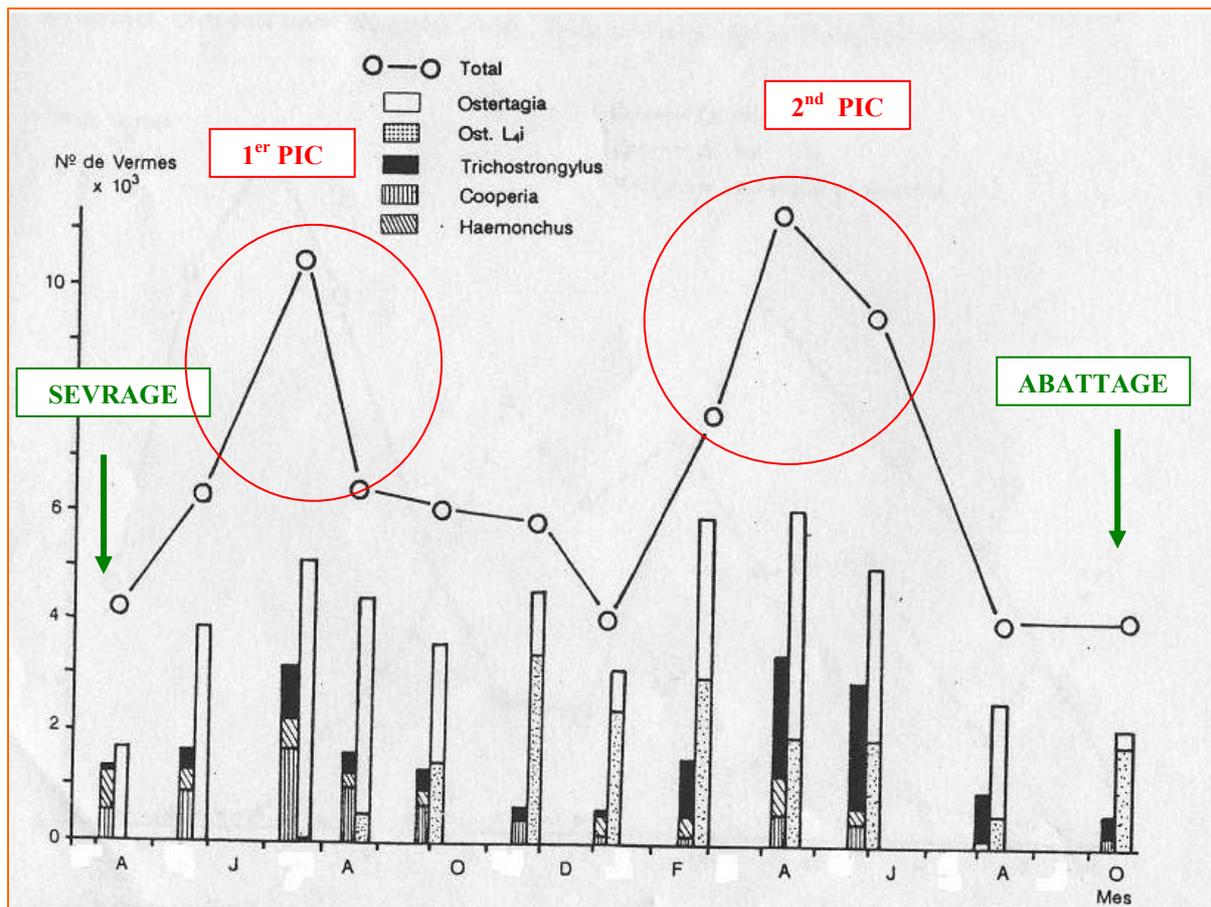


Figure 2 : variation saisonnière de la moyenne de l'abondance en vers (Suarez, 1990).
(Ost.L4i signifie larves inhibées du genre *Ostertagia*).

L'infestation des taurillons est faible au moment du sevrage (au mois d'Avril du premier automne) : les vers qui parasitent les veaux avant le sevrage proviennent de l'infestation des mères. Lorsqu'on observe l'évolution de la contamination des mères, on détecte un pic post-partum d'excrétion d'œufs dans les fèces : ces œufs évoluent en larves infestantes en quelques semaines et sont disponibles sur la pâture pour les veaux qui commencent à intégrer l'herbe à leur régime alimentaire. L'infestation des veaux est détectable dès l'âge de 3 mois de vie environ, même si elle reste faible (Suarez et Buseti, 1994).

A partir du mois d'Avril, le niveau d'infestation augmente progressivement jusqu'au milieu de l'hiver (Juin, Juillet) où il atteint un premier pic : à cette période, les conditions environnementales sur la pâture sont très favorables au développement des formes de vie libre (humidité et température optimales). Leur taux de survie est élevé et les larves infestantes sont disponibles en grand nombre (Suarez, 2001). Ces conditions environnementales favorables, associées à un faible niveau des défenses immunitaires des animaux jeunes, conduisent à ce pic d'infestation (Suarez, 1990).

L'infestation diminue ensuite pendant le printemps et l'été : cette chute correspond à la fois à la diminution du nombre d'adultes à cause du phénomène d'inhibition, au développement de l'immunité des hôtes dont l'un des effets est la limitation de la ponte des vers adultes (Suarez Gonella et Fort 1989), et à la forte mortalité des larves sur la pâture à cause de la hausse des températures et l'augmentation de la sécheresse (Suarez, 2001).

Le niveau d'infestation augmente à nouveau à la fin de l'été (Décembre, Janvier) et atteint un deuxième pic au second automne (Mars, Avril) : ce second pic est dû à l'augmentation de l'humidité et aux températures favorables. Ces conditions permettent un développement rapide des larves et une faible mortalité de celles-ci, ce qui conduit à une forte contamination des pâtures.

Les deux périodes critiques d'infestation sont donc situées à l'automne/hiver de la première puis de la deuxième année de pâture.

L'espèce *Ostertagia ostertagi* prédomine pendant toute l'année, et on voit que les formes immatures d'*Ostertagia ostertagi* sont plus nombreuses que les adultes du milieu du printemps jusqu'à la fin de l'été.

2.3.1.2. Jeunes bovins en exploitation laitière

L'infestation des jeunes bovins dans les exploitations laitières suit le même schéma général sauf au moment du sevrage : comme les vêlages sont plus précoces, les animaux débutent leur saison de pâture en été (Suarez et De La Mata, 1987). La bonne qualité de fourrage à cette époque de l'année et les conditions environnementales défavorables pour les vers sur la pâture sont un avantage par rapport au système de « recría-ivernada ». *Ostertagia ostertagi*, qui initie son inhibition à cette période, est peu présent sur la pâture : le niveau d'infestation des jeunes dans les exploitations laitières est plus faible (Suarez et Buseti, 1989 et 1993).

2.3.1.3. Adultes

L'infestation des adultes reste faible, car le contact avec les nématodes provoque le développement d'une immunité efficace, en deuxième saison de pâture pour les genres *Cooperia*, *Trichostrongylus* et *Haemonchus* en particulier (Mehlhorn, Duwel et Raether, 1993).

2.3.2. Conséquences

2.3.2.1. Les cas cliniques

L'infestation par ces nématodes provoque l'apparition de diarrhée, d'anorexie, d'amaigrissement et d'anémie qui conduisent parfois à la mort des animaux.

Lorsque ces symptômes apparaissent juste après le sevrage, lors du premier automne, on parle d'Ostertagiose de type I : il s'agit de l'effet du développement en 2 à 6 semaines d'un très grand nombre de larves d'*Ostertagia ostertagi* en vers adultes, associées communément à *Cooperia*, *Haemonchus* et *Trichostrongylus*.

Lorsque les cas cliniques surviennent à la fin de l'été et au début de l'automne, on parle d'Ostertagiose de type II. Elle est due à la reprise de l'évolution d'un grand nombre de larves inhibées. Les signes cliniques sont les mêmes que dans l'Ostertagiose de type I, mais avec cette fois-ci une faible morbidité et une forte mortalité. Les animaux atteints ont donc plus d'un an. L'ingestion de nouvelles larves, qui se développent dans un délai court sur la pâture, peut compliquer l'Ostertagiose de type II d'une Ostertagiose de type I.

2.3.2.2. Les pertes subcliniques

La conséquence la plus fréquente des strongyloses gastro-intestinales est représentée par les pertes de production. Celles-ci sont élevées, notamment lors de la période d'engraissement (Hoste *et al.*, 2004)

Ainsi, juste après le sevrage, lors du premier automne/hiver des jeunes bovins dans la Pampa, les pertes subcliniques du gain de poids peuvent atteindre 19 à 22 %. Au début du printemps, ces pertes correspondent à un poids inférieur de 18 à 44 kg. Plus tard, lors de la deuxième année de pâture, les pertes de production ne surviennent que chez les animaux soumis à des restrictions alimentaires, grâce au développement de l'immunité.

Cette faible efficacité de la conversion de fourrage en viande est l'effet le plus fréquent. Elle est due à la diminution de la consommation alimentaire, qui peut atteindre 18 à 25% à cause de l'infestation (Meija *et al.*, 2003). La baisse de gain de poids correspond à un défaut de développement musculaire et osseux.

Dans les exploitations laitières, cette baisse de gain de poids conduit à un retard dans l'atteinte du poids de mise à la reproduction et à une hétérogénéité des lots (Suarez et Busetti, 1989).

Les strongyloses gastro-intestinales représentent un frein à la rentabilité des élevages pampéens. Elles sont dues à l'infestation par cinq espèces de nématodes dans la Pampa. Il s'agit des espèces *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia oncophora*, *Cooperia punctata*, *Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus axei*, *Ostertagia ostertagi* étant l'espèce la plus fréquente et la plus pathogène. Les animaux les plus vulnérables sont les jeunes en croissance lors de leur première saison de pâture. Ces parasites peuvent provoquer des diarrhées et une anémie, mais les pertes les plus importantes sont subcliniques et correspondent à une diminution du gain de poids. Pour lutter contre cette pathologie parasitaire, les élevages argentins disposent de différents moyens de lutte dont le principal est le traitement des animaux par des molécules anthelminthiques.

3. La lutte contre les strongyloses gastro-intestinales : une lutte fondée essentiellement sur l'utilisation des anthelminthiques en Argentine

La lutte contre les nématodes peut s'organiser autour de la destruction des formes de vie parasitaire dans l'animal, ou des formes de vie libre sur la pâture. En Argentine comme dans le reste du monde, la lutte repose essentiellement sur la destruction des formes de vie parasites par l'utilisation de molécules anthelminthiques (Anziani et Fiel, 2005).

3.1 Les anthelminthiques

Il existe différentes molécules ayant des propriétés anthelminthiques. Parmi elles nous ne présenterons que celles qui sont les plus utilisées en Argentine dans les traitements administrés aux bovins. Celles-ci sont choisies par les éleveurs pour leur large spectre d'activité et leur facilité d'application. Elles appartiennent à trois familles :

- la famille des benzimidazolés
- la famille des imidazothiazoles
- la famille des lactones macrocycliques

3.1.1 Les benzimidazolés

3.1.1.1 Description

Les benzimidazolés sont des molécules dont la structure correspond à la fusion d'un noyau benzène et d'un noyau hétérocycle : l'imidazole. A partir de cette structure de base, des substitutions ont été effectuées pour obtenir des molécules plus actives. Le premier benzimidazolé utilisé comme anthelminthique fut le **thiabendazole** en 1963 (Prichard, 1986).

3.1.1.2 Mode d'action

Deux modes d'action ont été décrits. Les premières études sur le mode d'action de cette famille de molécules ont mis en évidence une altération des cellules intestinales des nématodes, avec une redistribution cytoplasmique de leurs organites cellulaires (Borger et De Nollin, 1975).

Depuis, il a été démontré que les benzimidazolés agissaient sur les **microtubules**. Ils provoquent une inhibition du transport des vésicules sécrétoires et un relargage des enzymes digestives dans le cytoplasme des cellules intestinales (Jasmer *et al.*, 2000).

L'action des benzimidazolés est due à leur capacité à se lier avec une grande affinité à la β -tubuline, protéine constitutive des microtubules. Ils perturbent leur structure et leur fonction : les microtubules jouant un rôle crucial dans la vie cellulaire (mitose, mobilité et transport), leur destruction aboutit à la mort de l'organisme. La forte spécificité de la toxicité des benzimidazolés pour les nématodes est due à la plus forte affinité de la molécule pour la β -tubuline des nématodes (Lacey, 1988).

Le deuxième mode d'action des benzimidazolés est l'inhibition de certains complexes enzymatiques des helminthes. Deux enzymes sont principalement bloquées : la « succinate décarboxylase » et la « fumarate réductase » (Prichard, 1986). Ces blocages privent le parasite d'énergie.

3.1.1.3 Spectre d'activité et molécules disponibles en Argentine

En Argentine, les molécules commercialisées sont : le mébendazole, le fenbendazole, l'albendazole et l'oxfendazole (Suarez, 1994). Toutes ces molécules ont l'avantage d'être efficace contre les adultes, les larves et les oeufs. L'efficacité sur les stades de vie inhibée est de 50 à 60 % seulement. En Argentine, ces produits sont disponibles sous forme orale et intraruminale. En 1994 est apparu le ricobendazole, premier benzimidazolé sous forme injectable.

Un délai de 5 à 28 jours est à respecter avant la consommation de la viande ou du lait.

Sont également disponibles des pro-benzimidazolés, dont l'activité apparaît après métabolisation dans le foie et le rumen : le fébantel et le nétobimin. Le dernier a l'avantage d'exister sous forme injectable en Argentine.

3.1.2 Les imidazothiazoles

3.1.2.1 Description

Les imidazothiazoles sont des molécules synthétiques proposées en 1966 pour les traitements anthelminthiques. Ce groupe réunit le lévamisole et le tétramisole, le premier étant le lévo-isomère du second (Martin, 1997). La structure du lévamisole est rappelée dans la figure 3 :

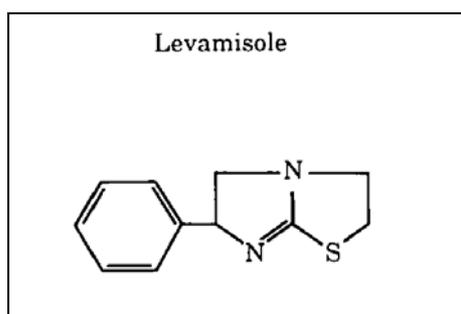


Figure 3 : structure chimique du lévamisole (Martin, 1997).

3.1.2.2 Mode d'action

Les molécules comme le lévamisole agissent en provoquant une paralysie spastique des nématodes, conduisant à leur expulsion à l'extérieur de l'hôte. Leur site d'action est un récepteur nicotinique à l'acétylcholine (nAChR) situé sur des pores de la membranes des cellules musculaires (Martin *et al.*, 1998) : la fixation du lévamisole sur le site provoque l'ouverture du pore et induit un flux d'ion qui conduit à la dépolarisation de la cellule et la paralysie du muscle.

3.1.2.3 Spectre d'activité et molécules disponibles en Argentine

Les deux produits présents sur le marché argentin sont le lévamisole et le tétramisole (Suarez, 1994). Ils sont actifs contre les adultes et les immatures mais pas contre les formes larvaires inhibées. Le lévamisole peut être administré chez les femelles gestantes. Les présentations disponibles sont orales, injectables ou topiques.

3.1.3 Les lactones macrocycliques

3.1.3.1 Description

Dans ce groupe, on retrouve deux classes de principes actifs :

- les **avermectines**, produites par un champignon Actinomycètes : *Streptomyces avermitilis*. Dans ce groupe on retrouve l'ivermectine, la doramectine et l'abamectine
- les **milbémécines**, produites par le champignon *Streptomyces cyaneogriseus* : on retrouve la moxidectine

Dans les deux groupes, les molécules sont des composés de 16 groupements lactones. Les milbémécines sont les dérivés déglycosylés des avermectines (Shoop *et al.*, 1995), comme le montre la figure 4.

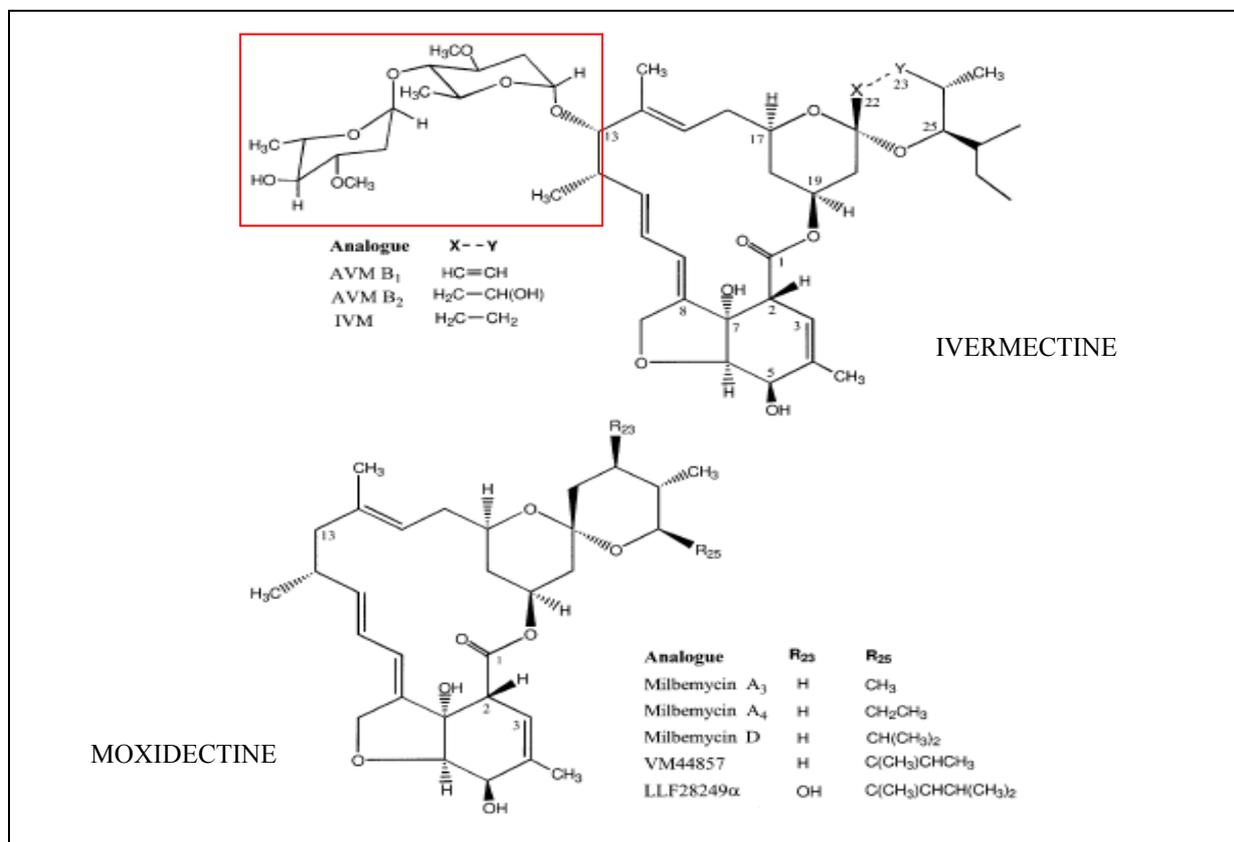


Figure 4 : structure de la molécule d'ivermectine et de la molécule de moxidectine. Les deux structures sont superposables, la molécule d'ivermectine possède un groupement disaccharide en plus. (Shoop *et al.*, 1995).

3.1.3.2 Mode d'action

Les lactones macrocycliques agissent en provoquant une paralysie flasque de la musculature somatique des nématodes. Au niveau du pharynx, la paralysie bloque l'aspiration et empêche l'alimentation ce qui conduit à la mort du parasite (Kotze, 1998 ; Sangster et Gill, 1999).

L'ivermectine a une action sur deux transporteurs d'ions chlorures (Cully *et al.*, 1996 ; Martin, 1996 ; Dent *et al.*, 1997 ; Vassilitis *et al.*, 1997) : l'un est un récepteur au glutamate présent uniquement chez les nématodes, l'autre est le récepteur au GABA (acide gama-amino butyrique). L'ivermectine semble agir comme agoniste de ses deux neurotransmetteurs : à faible concentration, sa fixation sur les récepteurs potentialise l'effet du neurotransmetteur, à forte concentration, elle ouvre de façon irréversible le canal dépendant du récepteur. Cette ouverture provoque un courant d'ions chlorures qui induit une hyperpolarisation axonale et une paralysie flasque.

Le mode d'action de la moxidectine n'a pas encore été totalement élucidé, et la question de savoir si il était le même que celui de l'ivermectine divise les scientifiques. D'après Shoop *et al.* (1995), tous les arguments sont en faveur d'un mécanisme d'action semblable entre la moxidectine et l'ivermectine : les structures moléculaires de l'ivermectine et de la moxidectine sont superposables, les études électrophysiologiques indiquent des effets pharmacologiques similaires sur les transporteurs d'ions chlorure, la résistance aux deux molécules est croisée chez de nombreuses espèces, il y a une inhibition compétitive de la liaison ivermectine/membrane chez le nématode *Caenorhabditis elegans* par la moxidectine, les spectres d'efficacité des deux molécules sont semblables (Shoop *et al.*, 1995).

La toxicité de l'ivermectine est spécifique aux invertébrés car les récepteurs au glutamate n'existent pas chez les hôtes vertébrés. Cependant l'ivermectine est active à forte concentration sur les récepteurs au GABA des vertébrés et entraîne des symptômes nerveux graves lors de traitement de certains animaux présentant une déficience de leur barrière hémato-méningée (Etter *et al.*, 1999).

3.1.3.3 Spectre d'activité et molécules disponibles en Argentine

Les avermectines sont actives contre les adultes, les immatures, et les larves inhibées des nématodes. Elles ne sont pas ovicides mais réduisent la viabilité des œufs produits par les nématodes ayant survécu au traitement (Prichard, 1986). L'ivermectine est également active contre certains insectes et contre les acariens, ce qui explique l'engouement dont elle a fait l'objet et son utilisation massive depuis sa mise sur le marché en 1981 (Caracostangolo, 2005).

Les avermectines peuvent être administrées lors de la gestation. Leur persistance dans les graisses les rend efficaces de 1 à 4 semaines. Un délai de 21 à 35 jours est à respecter avant d'autoriser la consommation de lait ou de viande.

En Argentine on retrouve l'ivermectine, l'abamectine, et la doramectine dans le groupe des avermectines. Comme milbémycine, les éleveurs disposent de la moxidectine (Suarez, 1994).

La lutte contre les nématodoses gastro-intestinales reposent uniquement sur l'utilisation de ces anthelminthiques. Cependant un phénomène nouveau dans les exploitations bovines argentines rend ces traitements anthelminthiques de moins en moins efficaces : il s'agit du phénomène de résistance.

3.2. La résistance aux anthelminthiques

3.2.1. Définition

La résistance aux anthelminthiques se définit comme suit : il s'agit de la réduction héritable de la sensibilité d'une population d'individus à l'action d'une drogue. Cette résistance se traduit par l'apparition dans la population, d'individus capables de tolérer des doses de drogues létales pour la majorité des individus (Anziani, 2005).

3.2.2. Mécanismes de résistance

3.2.2.1. Mécanisme général

On considère que les gènes conférant à un nématode la résistance à une drogue sont présents chez un petit nombre d'individus hétérozygotes, avant la première exposition à cette drogue. Au fur et à mesure que cette drogue est utilisée pour réaliser des traitements antiparasitaires, on exerce une pression de sélection qui contribue à faire augmenter la fréquence d'individus hétérozygotes avec le gène conférant la résistance. A terme, la pression de sélection conduit à obtenir une population dans laquelle, les individus homozygotes pour les gènes conférant la résistance, sont majoritaires. La résistance est donc le résultat de l'adaptation des populations de nématodes à un stress permanent constitué par l'application fréquente d'un antiparasitaire (Anziani, 2005).

Les mécanismes de résistance des nématodes sont de type spécifique et non spécifique.

3.2.2.2. Les mécanismes spécifiques

Il s'agit des modifications qui confèrent aux nématodes une insensibilité spécifique à une molécule ou à une famille de molécule.

- Cas des benzimidazolés

Dans le cas de la résistance aux benzimidazolés, les tests de liaison *in vitro* montrent une diminution de l'affinité des benzimidazolés pour la β -tubuline, chez les individus résistants (Roos *et al.*, 1995) : cette diminution implique une modification du site de liaison sur la β -tubuline des nématodes.

En comparant les fréquences alléliques du gène codant la β -tubuline, entre les populations résistantes et les populations sensibles, on a pu mettre en évidence des modifications conférant le phénotype résistant. Ainsi, chez *H. contortus* et *T. colubriformis* pour le gène de l'isotype I de la β -tubuline, on ne retrouve que un ou deux allèles dans les populations résistantes contre plusieurs chez les sensibles. De même, sur le locus du gène codant l'isotype I de la β -tubuline, on observe, chez les résistants, une mutation du codon 200 chez *H. contortus* (Kwa *et al.*, 1994) et chez *T. circumcincta* (Elard et Humbert, 1999). Cette mutation conduit au remplacement de la Phénylalanine par la Tyrosine.

Une autre mutation Tyrosine en position 167 des gènes de la β -tubuline isotype I et isotype II a été décrite chez *H. contortus*, *T. circumcincta* et *T. colubriformis* résistants (Silvestre et Humbert, 2002).

- Cas du lévamisole

Comme pour les benzimidazolés, l'apparition de la résistance au lévamisole est liée à des modifications du site de liaison avec le récepteur nicotinique. Ce sont des modifications du site lui-même, ou bien des modifications de l'arrangement stochiométrique des chaînes composant les sous-unités.

La modification du site de liaison a tout d'abord été suggérée par des essais avec du lévamisole radioactif chez *H. contortus* : ceux-ci montraient qu'il y avait deux types de sites de liaison du lévamisole sur le récepteur et que, chez les individus résistants, la liaison diminuait sur le site de moins grande affinité (Sangster *et al.*, 1998 ; Sangster et Gill, 1999).

De même chez *C. elegans*, des gènes codant les sous-unités du récepteur ont été identifiés. Il a été montré que ces gènes, clonés à partir de populations résistantes et exprimés par *Xenopus oocytes*, étaient associés à des récepteurs déficients ou ayant des propriétés de liaison différentes (Flemming *et al.*, 1997)

Plus récemment, Robertson *et al.* (1999) ont étudié les modifications des récepteurs nicotiniques chez *Oesophagostomum dentatum* (parasite du porc). Ils ont émis l'hypothèse que la résistance provenait de la diminution de la proportion de récepteurs nicotiniques sensibles au lévamisole.

D'autres études, montrent que les populations résistantes présentent moins de récepteurs nicotiniques que les populations sensibles (Wolstenholme *et al.*, 2004).

- Cas des lactones macrocycliques

Pour les lactones macrocycliques, la résistance provient probablement de modifications de la cible : le récepteur au glutamate. Des modifications de la fréquence allélique d'un gène codant une sous-unité du récepteur au glutamate ont été mises en évidence, parmi les populations résistantes d'*Haemonchus contortus* (Blackhall *et al.*, 1998b). Une diminution de l'affinité de la liaison ivermectine/récepteur a également été démontrée (Njue *et al.*, 2004).

Le développement de la résistance dépend également de mécanismes non spécifiques.

3.2.2.3. Les mécanismes non spécifiques

Les mécanismes non spécifiques ne sont pas dirigés exclusivement contre une famille de principe actif. Ce sont des mécanismes de transformation et d'évacuation des xénobiotiques à l'extérieur de l'organisme. En général, ces mécanismes permettent l'élimination de molécules toxiques pour les cellules qui peuvent traverser facilement les membranes par diffusion. Ces processus de détoxification cellulaire, décrits chez les vertébrés, sont retrouvés chez les nématodes (Barett, 1997).

3.2.2.3.1. La détoxification cellulaire : un processus en trois étapes

Le processus de détoxification comporte trois étapes :

- la **première étape** est l'étape de **biotransformation** : à cette étape, les molécules qui ont pénétré dans la cellule subissent des réactions de réduction ou d'hydrolyse qui dépendent des cytochromes (P450 en particulier). Le cytochrome P450 est connu pour son rôle dans la résistance aux insecticides. Chez *C. elegans*, deux gènes de cytochrome P450 ont été identifiés (Waterson *et al.*, 1992) et leur rôle dans la détoxification cellulaire de ce nématode a été démontré (Jia *et al.*, 2002).
- la **seconde étape** est l'étape de **conjugaison** : au cours de cette étape la molécule subit des réactions d'ajout de groupements polaires ou de dérivés endogènes tels que le glutamate, le sulfate ou le glutathion. La glutathion-transférase est très présente chez les cestodes et les digènes, moins chez les strongles gastro-intestinaux (Barrett, 1997). Cependant une augmentation de son activité a été mise en évidence chez des nématodes résistants aux benzimidazolés. (Kawalek *et al.*, 1984)

- la **dernière étape** est l'étape d'**excrétion** : il s'agit de l'évacuation hors de la cellule de la molécule transformée. Cette étape dépend de la participation de transporteurs nommés « pompes d'efflux » dont les plus connus sont les MRP : « Multi Drug Resistance associated Proteins » (Barrett, 1997).

3.2.2.3.2. *Le système MDR : les transporteurs ABC*

Les transporteurs ABC ou « ATP binding cassette » constituent une grande famille de protéines dont les gènes ont été très conservés entre les espèces. Chez les mammifères, 7 sous-familles de gènes de transporteurs ABC ont été identifiées (Borst *et al.*, 1993) et 48 protéines ont été dénombrées.

Ces transporteurs sont constitués de domaines transmembranaires et ont, la plupart du temps, un rôle de transport actif à l'extérieur des cellules : soit de transport de molécules étrangères à la cellule, soit de transport de substrats ayant une fonction physiologique. Ils sont impliqués dans la résistance des cellules tumorales aux anticancéreux (Gottesman *et al.*, 2002).

Chez les nématodes, des protéines ont été identifiées comme étant des transporteurs ABC (Kerboeuf *et al.*, 2002 ; Kerboeuf *et al.*, 2003a et Kerboeuf *et al.*, 2003b), mais peu de données sont disponibles sur leur rôle exact chez ces organismes. Deux types de transporteurs ABC sont principalement impliqués dans les mécanismes de résistance : les **MRP** ou Multi drug Resistance associated Protein » et les **glycoprotéines P**.

3.2.2.3.2.1 Les MRP ou Multi drug Resistance associated Proteins »

Ce sont des protéines de 190 kDa. Elles possèdent quatorze segments transmembranaires reliés par des boucles intra et extra-cellulaires, deux domaines de liaison à l'ATP et des sites de phosphorylation et de glycosilation potentiels (Zimniak *et al.*, 1999).

Les MRP servent à transporter des molécules physiologiques entre les différents compartiments intracellulaires. Elles participent à la séquestration lysosomiale de certains antimitotiques, à la détoxification cellulaire et au transport de médiateurs de l'inflammation (Feller *et al.*, 1995 ; Baggetto *et al.*, 1997). Ce sont des pompes d'efflux à large spectre d'activité.

Chez les nématodes, quatre gènes homologues de MRP ont été identifiés chez *C. elegans*. Une des protéines semble être impliquée dans le transport de métaux lourds (Broeks *et al.*, 1996). Ces MRP ont été observées dans le pharynx, la valve laryngo-intestinale, la valve recto-intestinale et dans les cellules épithéliales de la vulve.

3.2.2.3.2.2 Les glycoprotéines P (P-gP)

Ce sont des protéines de 170 kDa. Elles sont constituées de douze domaines transmembranaires reliés par des boucles intra et extra-cellulaires et de deux domaines de liaison à l'ATP (Zimniak *et al.*, 1999).

Chez l'homme et la souris, plusieurs gènes homologues de la P-gP sont connus et impliqués dans la résistance multiple aux anti-cancéreux : la surexpression du gène MDR 1 chez l'homme et *mdr1* chez la souris confère la résistance aux anticancéreux (Gottesman, 2002).

Chez les nématodes, l'expression de P-gP a également été mise en évidence.

- **Expression des P-gP chez les nématodes**

C'est chez le nématode libre *Caenorhabditis elegans* que des gènes homologues codant des P-gP ont été identifiés pour la première fois : 14 gènes homologues au moins ont été identifiés (Lincke *et al.*, 1992) contre 2 seulement chez l'homme et 3 chez la souris. On peut penser que la présence d'un grand nombre de gènes codant des P-gP chez des organismes possédant un petit génome comme les nématodes, correspond à un besoin de ces organismes de se protéger d'une multitude de toxines environnementales (Kerboeuf *et al.*, 2003a).

Chez *Haemonchus contortus*, au moins 7 gènes codant des P-gP ont été identifiés. D'autres gènes ou portion de gènes codant des P-gP ont été identifiés chez d'autres espèces de nématodes parasites telles que *Onchocerca volvulus* (Kwa *et al.*, 1998) et *Schistosoma mansoni* (Huang et Prichard, 1999).

- **Localisation des P-gP chez les nématodes**

Chez *C. elegans*, des P-gP ont été observées dans les cellules excrétoires, les cellules intestinales et le pharynx (Broeks *et al.*, 1995). La présence de P-gP a été mise en évidence à tous les stades de la vie de ce nématode. (Lincke *et al.*, 1993).

Chez *H. contortus*, des P-gP ont été observées dans le tractus digestif et plus particulièrement dans sa portion antérieure c'est-à-dire le pharynx et l'intestin antérieur (Smith et Prichard, 2002). Chez les œufs de *H. contortus*, la présence de P-gP a également été mise en évidence (Kerboeuf *et al.*, 2002), notamment dans la cuticule (Riou *et al.*, 2005).

- **Rôle des P-gP dans la résistance aux différents anthelminthiques**

L'implication des P-gP dans la résistance aux **benzimidazolés** a été démontrée de façon indirecte, en utilisant le vérapamil, un inhibiteur des P-gP : l'application conjointe de l'inhibiteur avec du thiabendazole et de l'albendazole augmentait leur toxicité pour des œufs de *H. contortus* (Beugnet *et al.*, 1997).

Peu d'investigations ont été menées pour connaître le rôle des P-gP dans la résistance au **lévamisole** et aux molécules apparentées. On sait cependant que le lévamisole est un substrat de la protéine issue du gène MDR1 chez les humains (Naito *et al.*, 1998) et un agent réversant efficace de la résistance aux anticancéreux : le lévamisole et les molécules de la même famille sont probablement également des substrats des P-gP des helminthes (Kerboeuf *et al.*, 2003a).

Plusieurs éléments soutiennent l'hypothèse de l'intervention des P-gP dans la résistance aux **lactones macrocycliques**. Des différences dans les fragments de restriction d'un gène codant une P-gP ont été mises en évidence, entre des souches résistantes et des souches sensibles de *H. contortus*. Ces différences étaient associées à une surexpression du gène en question (Xu *et al.*, 1998). Dans la même étude, la co-application de vérapamil (inhibiteur de la P-gP) avec l'ivermectine et la moxidectine augmentait l'efficacité de ces deux anthelminthiques chez des souches résistantes de *H. contortus* parasitant des gerbilles.

Une différence entre les fréquences alléliques de ce gène a été mise en évidence entre des populations sensibles et des populations résistantes d'*H. contortus* (Blackhall *et al.*, 1998) : la fréquence d'un allèle en particulier augmentait de façon très marquée après que 17 générations d'une population d'*H. contortus* aient été soumises à l'application d'ivermectine et de moxidectine.

Il semble que plusieurs gènes codant des P-gP soient impliqués dans le phénotype résistant : en effet, Le Jambre *et al.* (1999), Kwa *et al.* (1998) et Sangster *et al.* (1999) ont identifié des différences entre souches résistantes et souches sensibles, pour d'autres gènes codant des P-gP, chez *H. contortus* et chez *H. placei*.

3.3. Méthodes de détection de la résistance

Il existe différents tests pour mettre en évidence la résistance aux anthelminthiques chez les populations de nématodes.

3.3.1. Tests *in vivo*

3.3.1.1. Bilan parasitaire

Il s'agit de sacrifier des animaux 6 jours après le traitement pour compter et identifier les genres de vers ayant résisté à l'anthelminthique utilisé (Jacquiet, 1999).

3.3.1.2 Test de réduction de l'excrétion fécale (Fecal Egg Count Reduction: FECRT)

Ce test consiste à comparer la diminution de l'excrétion d'œufs de nématodes dans les fèces, chez des animaux traités et des animaux témoins, une dizaine de jours post-traitement. Chez les bovins, il est recommandé d'utiliser des groupes de 15 animaux et de n'utiliser que des animaux ayant des comptages d'œufs excrétés supérieur à 100 (Coles *et al.*, 2006). L'identification des genres de nématodes présents se fait par coproculture. Les délais recommandés dépendent de la classe d'anthelminthique testée (Coles *et al.*, 2006) :

- pour les benzimidazolés le délai est de 8-10 jours
- pour le lévamisole le délai est de 3-7 jours
- pour les lactones macrocycliques le délai est de 14-17 jours

Plusieurs formules permettent de calculer la réduction du nombre d'œufs. Celle reconnue par la WAAVP est la suivante (Coles *et al.*, 1992) :

Réduction = $(1 - \text{OPGt} / \text{OPGc}) \times 100$, avec OPGt le nombre moyen d'œufs par gramme de fèces trouvés chez les animaux traités et OPGc le nombre moyen d'œufs par gramme de fèces trouvés chez les animaux non traités ou animaux contrôles.

Selon la WAAVP, il y a résistance si la réduction est inférieure à 95% et si la limite inférieure de l'intervalle de confiance, au risque $\alpha=5\%$, est inférieure à 90%. D'autres méthodes de calcul de la réduction existent (Coles *et al.*, 2006).

3.3.2. Tests biologiques

3.3.2.1. Test d'éclosion des œufs (Egg Hatch Assay: EHA)

Ce test est fondé sur les propriétés ovicides des benzimidazolés : il consiste à comparer l'évolution d'œufs de nématodes en présence de concentration croissante d'un benzimidazole.

Le benzimidazole de référence est le thiabendazole. Pour chaque anthelminthique une dose discriminante doit être déterminée : il s'agit de la dose à laquelle 99% des œufs n'éclosent pas. L'identification des genres se fait par coproculture (Coles *et al.*, 2006).

3.3.2.2. Test de paralysie des larves

Il est utilisé pour détecter une résistance au lévamisole, au morantel et au pyrantel. On observe la paralysie des larves L3 en présence de concentrations croissantes d'anthelminthique. Après 24h de contact on estime le pourcentage de larves paralysées (Jacquiet, 1999).

3.3.2.3. Test d'inhibition du développement larvaire

Des œufs de nématodes sont mis en présence de différentes concentrations d'anthelminthiques. Après 10 jours de contact, on estime le pourcentage de larves L3 vivantes. On peut ainsi calculer une concentration létale pour 50% des larves (Coles *et al.*, 2006). Deux méthodes existent, la première utilise un milieu liquide, la deuxième un gel de microagar (Coles *et al.*, 2006).

3.3.3. Tests biochimiques

3.3.3.1. Test de couplage à la tubuline

Ce test consiste à quantifier la liaison benzimidazole-tubuline en présence d'un compétiteur radioactif.

3.3.3.2. Le dosage colorimétrique des estérases.

Ce test est réalisé chez les stades larvaires. Il s'agit de quantifier les estérases qui sont plus nombreuses chez les individus résistants.

3.3.4. Tests moléculaires

Ce test n'est disponible que pour les benzimidazolés puisque, pour le moment, les mécanismes d'action des lactones macrocycliques et du lévamisole ne sont pas totalement élucidés (Coles *et al.*, 2006).

Il s'agit d'utiliser des amorces du gène de la β -tubuline mutée sur le codon 200 et des amorces du gène de la β -tubuline normale. Ces amorces servent à mesurer la proportion d'individus homozygotes pour le gène muté, la proportion d'individus hétérozygotes, et la proportion d'individus homozygotes pour le gène normal, en utilisant la PCR.

Le séquençage de la β -tubuline n'a pas été réalisé pour toutes les espèces de nématodes. Le test a donc uniquement été développé pour *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus colubriformis* et *Haemonchus contortus*, chez le mouton, et pour *Cooperia oncophora*, chez les bovins.

Les avantages et les inconvénients de chacune des techniques sont présentés dans le tableau 2.

Comme on le voit dans le tableau 2, les choix sont limités pour la détermination de la résistance chez les bovins. Les tests les plus fréquemment utilisés sont le test de réduction d'excrétion fécale et le test d'inhibition du développement larvaire.

Tableau 2 : avantages et inconvénients des différents tests disponibles pour la mise en évidence de la résistance des nématodes aux anthelminthiques. (BZ : Benzimidazolés LV : lévamisole) (Jacquet, 1999 ; Coles et al. 2006).

	METHODES	ANTHÉL MINTHIQUE	AVANTAGES	INCONVENIENTS
TESTS <i>IN VIVO</i>	Bilan parasitaire	Tous	Bonne sensibilité Réalisable pour les 3 grandes familles d'anthelminthiques	Coût très élevé Possibilité limitée de tester des doses différentes donc pas de détermination de degré de résistance
	Test de réduction de l'excrétion d'œufs (FECRT)	Tous	Facile à mettre en œuvre Faisable dans l'élevage même Réalisable pour les 3 grandes familles d'anthelminthiques	Positif que si 25 % de la population de nématodes est résistante Pas d'évaluation du degré de résistance possible Forte variabilité individuelle de l'excrétion d'œufs Excrétion d'œufs variable selon les espèces de nématodes d'où corrélation imparfaite entre OPG et nombre de vers Besoin de réaliser des coprocultures pour l'identification des genres
TESTS BIO LOGI QUES	Test d'éclosion des œufs (EHA)	BZ	Rapide et simple Faible coût Bonne sensibilité Répétable	Doses discriminantes non déterminées pour les nématodes des bovins Difficulté dans le choix de souches de référence Besoin de réaliser des coprocultures pour l'identification des genres
	Test de paralysie des larves	LV	Les L3 sont disponibles pour l'identification des genres	Problème de subjectivité dans la détermination de la paralysie
	Test d'inhibition du développement larvaire	Tous	Réalisables pour tous les anthelminthiques et tous les nématodes Possibilité de tester plusieurs anthelminthiques à la fois Possibilité d'utiliser des œufs de tous âges Les L3 sont disponibles pour l'identification La standardisation est possible	Encore mal évalué pour les nématodes des bovins
TESTS BIOCHI MIQUES	Test de couplage à la tubuline	BZ		Réservé aux laboratoires équipés pour le maniement de produits radioactifs
	Dosage colorimétrique des estérases	BZ	Sensible	Nécessite une grande quantité de larves
TEST MOLECU LAIRE	Recherche du gène muté de la β -tubuline	BZ		Disponible que pour 4 espèces de nématodes dont deux parasitent les bovins

3.4. La résistance s'étend en Amérique Latine et en Argentine

3.4.1. Situation en Argentine

En Argentine, jusqu'à l'année 2000, la résistance aux anthelminthiques ne concernait que l'élevage ovin. Au second semestre de l'année 2000, les premiers cas de résistance aux anthelminthiques en élevage bovin ont été décrits, dans la province de Santa Fe et dans celle de Buenos Aires.

En 2003, une étude est réalisée pour déterminer la prévalence de la résistance aux anthelminthiques dans les élevages bovins d'Argentine (Caracostongolo *et al.*, 2005). 69 exploitations ont été tirées au sort dans les neuf provinces les plus importantes pour l'élevage bovin : Buenos Aires , Cordoba, Corrientes, Chaco, Entre Rios, La Pampa, Neuquen, Rio Negro, San Luis et Santa Fe. Dans ces élevages, des tests de réduction de nombre d'œufs ont été effectués afin de déterminer la présence de la résistance au benzimidazole, au lévamisole et à l'ivermectine. Les résultats de cette étude montrent que :

- 55% des exploitations testées présentent une résistance à l'ivermectine
- 10% au benzimidazole
- 7% au lévamisole

8 des élevages étudiés présentaient une résistance à plus d'un produit anthelminthique sur les trois testés. Un seul élevage présentait des nématodes résistants aux trois produits.

3.4.1.1. Les espèces de nématodes ayant développé une résistance

Cooperia fut le premier genre de nématode reconnu résistant en 2000, puis, rapidement, des souches d'*Haemonchus* et d'*Ostertagia* résistantes ont été décrites. En 2003, Meija *et al.* décrivent même un cas de résistance « multi-espèces » et « multi-drogues », dans une exploitation de la province de Córdoba, impliquant les genres *Cooperia* et *Ostertagia* et les anthelminthiques fenbendazole et ivermectine (Meija *et al.*, 2003).

Les différents cas de résistance décrits entre 2000 et 2004 et les espèces de nématodes associées sont répertoriés dans le tableau 3.

Tableau 3 : cas décrits de résistance aux anthelminthiques dans les élevages bovins en Argentine (Anziani et Fiel, 2005).

PROVINCE	ANTHELMINTHIQUE	GENRE CONCERNE	ESPECES CONCERNEES
Santa Fe (Centre)	Avermectines	<i>Cooperia</i>	<i>C.pectinata</i>
Buenos Aires (Ouest)	Avermectines	<i>Cooperia</i>	<i>C.oncophora</i>
Buenos Aires (Nord et Centre)	Avermectines	<i>Cooperia</i>	Non déterminé
La Pampa (Est)	Avermectines	<i>Cooperia</i>	Non déterminé
Santa Fe (Centre)	Avermectines et Benzimidazolés	<i>Haemonchus</i> et <i>Cooperia</i>	<i>H.placei</i> , <i>C.oncophora</i> , <i>C.pectinata</i>
Buenos Aires (Centre)	Benzimidazolés	<i>Haemonchus</i>	<i>H.contortus</i>
Córdoba (Sud)	Benzimidazolés	<i>Cooperia</i> <i>Haemonchus</i> et <i>Ostertagia</i>	<i>C.punctata</i> , <i>H.placei</i> , <i>O.ostertagi</i>
	Avermectines		<i>C.oncophora</i> , <i>C.punctata</i>
Chaco (Centre)	Avermectines Benzimidazolés	<i>Cooperia</i> et <i>Haemonchus</i>	Non déterminé

3.4.1.2. La résistance dans la Pampa

D'Avril 2004 à Mai 2005, la présence de résistance à l'ivermectine, aux benzimidazolés et au lévamisole a été recherchée dans 25 exploitations bovines de la région de la Pampa semi-aride subhumide, en effectuant des tests de réduction de comptage d'œufs. (Suarez et Cristel, 2007).

Il apparaît que le phénomène de résistance est largement répandu dans cette région puisque 64 % des exploitations testées sont concernées.

La résistance à l'ivermectine a été détectée dans 60 % des exploitations testées. La résistance au groupe des benzimidazolés était présente dans 32% des exploitations étudiées. Aucun cas de résistance au lévamisole n'a été mis en évidence.

Le genre *Cooperia* est prédominant dans les cas de résistance aux avermectines, tandis que le genre *Ostertagia* est prédominant dans les cas de résistance aux benzimidazolés.

C'est dans cette région que Meija *et al.* décrivent en 2003 le cas, déjà cité, de résistance multiple impliquant *Haemonchus placei*, *Ostertagia ostertagi* et *Cooperia spp.*(Meija *et al.*, 2003).

3.4.1.3. Impact de l'apparition de la résistance pour la production bovine

La découverte de l'apparition de la résistance aux anthelminthiques dans les exploitations bovines étant un phénomène récent, il n'existe pas encore d'évaluation précise de l'impact de ce phénomène sur la production (Anziani *et al.*, 2005). Cependant, les conséquences de la résistance dépendent étroitement de l'espèce de nématode concernée : ainsi, alors que les premiers cas de résistance décrits qui impliquaient *Cooperia* n'ont été détectés qu'au hasard d'un diagnostic de routine, on peut citer le cas d'une exploitation d'engraissement intensif dans laquelle, en 20 jours, 140 animaux sont morts sur 4500, à cause de souches résistantes d'*Haemonchus* et d'*Ostertagia* (Fiel *et al.*, 2005).

3.4.2. Situation dans le reste de l'Amérique Latine

En Amérique Latine, c'est dans l'élevage ovin que la résistance aux anthelminthiques a fait l'objet d'étude de prévalence et ce plus particulièrement au Brésil, en Argentine au Paraguay et en Uruguay. Ces quatre pays partagent une zone de pluies importantes où l'élevage ovin, très répandu, est fortement soumis au parasitisme par les nématodes (Waller *et al.*, 1996). La prévalence de la résistance aux anthelminthique atteint 80% des exploitations pour certaines molécules comme les benzimidazolés (Maciel *et al.*, 1996). La fréquence d'application des traitements est très élevée : de 6 à 12 traitements par an au Brésil (Farias *et al.*, 1997), un traitement toutes les trois semaines au Paraguay (Maciel *et al.*, 1996). A cela s'ajoute le problème de l'existence de nombreux produits génériques, peu coûteux, mais dont les concentrations en principe actif sont inférieures à celles indiquées sur la notice. Les trois genres de nématodes les plus fréquents et les plus pathogènes pour les moutons ont déjà développé un haut niveau de résistance : il s'agit des genres *Haemonchus*, *Ostertagia* et *Trichostrongylus* (Maciel *et al.*, 1996 ; Eddi *et al.* , 1996 ; Nari *et al.*, 1996 ; Farias *et al.*, 1997). En Amérique du Sud, les élevages ovins ont atteint, dès 1996, un niveau proche de celui où toutes les ressources de traitement anthelminthique sont épuisées, ce qui compromet jusqu'à leur existence.

3.5. Modes d'élevage favorisant l'apparition de la résistance.

Jusqu'à présent, la résistance aux anthelminthiques chez les bovins ne concerne qu'un nombre limité de pays dont les modes d'élevages possèdent des caractéristiques communes. Il s'agit de la Nouvelle-Zélande, du Brésil et de l'Argentine. On la retrouve également aux Etats-Unis et en Angleterre où elle est cependant moins répandue (Coles *et al.*, 2006). Dans ces pays, les conditions climatiques et l'élevage pastoral permettent la constante réinfection des animaux et l'acquisition de charges parasitaires élevées. De plus, la lutte contre les nématodes est fondée presque uniquement sur l'utilisation d'anthelminthiques.

Les conditions présentes dans ces pays comme l'Argentine favorisent donc l'utilisation massive des anthelminthiques. Un ensemble de mauvaises pratiques conduisent ensuite à la rapide apparition de résistance (Mehlhorn *et al.*, 1993).

3.5.1. Une utilisation massive de l'ivermectine

En Argentine, l'ivermectine est utilisée de façon massive pour sa facilité d'application et son spectre large s'étendant aux parasites externes (acariens, diptères producteurs de myiases, tiques) : en 2004, Suarez et Miranda réalisent une enquête sur 350 exploitations de l'Est de la région de la Pampa et observent que l'ivermectine est utilisée dans 94% des traitements (Suarez et Miranda, en rédaction). Les benzimidazolés sont les plus utilisés après l'ivermectine : dans cette même étude, ils correspondent à 26 % des traitements.

L'apparition de génériques pour les deux familles de drogues a provoqué une diminution des prix qui s'est traduite par une augmentation de la fréquence d'application des traitements, et une utilisation exclusive de ces deux produits.

L'utilisation prépondérante de l'ivermectine explique pourquoi la résistance à cette anthelminthique est la plus fréquente (Anziani, 2005).

3.5.2. Une fréquence élevée d'application de traitements anthelminthiques

En Argentine, la gestion du nombre et des périodes d'applications des traitements anthelminthiques n'est pas toujours raisonnée et ce d'autant plus que l'administration de produits antiparasitaires se fait la plupart du temps sans l'avis ni le contrôle d'un vétérinaire (Anziani, 2005 ; Suarez et Miranda, 2004).

Cela se traduit par des applications très fréquentes d'anthelminthiques. Or, en Argentine, les cas de résistance décrits jusqu'à présents sont observés dans des exploitations d'engraissement avec des traitements antiparasitaires fréquents depuis 4 à 5 ans (Anziani, 2005). Un cas extrême a même été décrit d'une exploitation où 13 traitements antiparasitaires étaient administrés par an, dans le but de rompre le cycle des nématodes et d'éliminer la charge parasitaire des pâtures (Anziani et Fiel, 2004).

Cela se traduit également par des périodes de traitements inadaptées à l'épidémiologie des nématodes. Les traitements ne permettent alors pas toujours de réduire efficacement les charges parasitaires et de prévenir les pertes subcliniques de gain de poids (Suarez et Miranda, en rédaction). Cette inefficacité contribue aussi à l'augmentation de la fréquence des traitements.

L'application non raisonnée des traitements a un autre effet négatif : les traitements sont appliqués sans tenir compte de la population parasite dans les refuges. Il s'agit de la population non exposée aux traitements c'est-à-dire les nématodes présents sur la pâture (Anziani, 2005). Cette population, non soumise à la pression de sélection, conserve les allèles de sensibilité qu'elle peut transmettre aux générations suivantes. Lorsque cette population est importante elle favorise la dilution des allèles de résistance. C'est le cas en automne/hiver en Argentine, quand le nombre de larves sur la pâture est élevé et que leur survie n'est pas menacée. En période estivale au contraire, la population de parasites dans les refuges est limitée. Les traitements administrés à cette période accélèrent l'expansion de la résistance. De la même façon, la méthode du « treat and move », recommandée dans la gestion des nématodoses, apparaît aujourd'hui comme une conduite favorisant l'apparition de la résistance (Anziani, 2005) : lorsque les animaux juste traités arrivent sur une pâture libre de parasites, la population en refuge est négligeable, et seuls vont se développer les nématodes ayant résisté aux traitements que les animaux importent en entrant sur la pâture.

La fréquence élevée des traitements et l'utilisation répétée du même anthelminthique induisent une pression de sélection très élevée sur les nématodes. Cette forte pression de sélection est un des facteurs principaux de l'apparition de résistance (Anziani, 2005).

L'infestation par les nématodes entraîne des pertes de production incompatibles avec la rentabilité de l'élevage bovin en Argentine. La lutte contre ces nématodes se fonde sur l'utilisation d'anthelminthiques appartenant à trois grandes classes : les lactones macrocycliques avec notamment l'ivermectine qui est l'anthelminthique le plus utilisé, les benzimidazolés et enfin le lévamisole.

Malheureusement, on assiste depuis quelques années au développement du phénomène de résistance. Il s'agit d'un ensemble de mécanismes spécifiques et non spécifiques, développés par les nématodes, qui leur permettent de survivre aux anthelminthiques. Dans les exploitations où les nématodes sont résistants, un ou plusieurs des anthelminthiques disponibles sont devenus inefficaces. Ce phénomène est déjà très répandu dans les exploitations bovines argentines.

Il existe des moyens de lutte alternatifs contre les nématodes comme la gestion des pâturages ou encore le pâturage mixte entre bovins et ovins mais ces moyens alternatifs sont incapables d'empêcher, seuls, les pertes causées par les nématodes (Bésier, 2007). Il est donc nécessaire de trouver des moyens de remédier à l'inefficacité des traitements anthelminthiques.

4. Solutions pour remédier à l'inefficacité des traitements anthelminthiques

4.1. Découvrir de nouvelles molécules anthelminthiques

Plusieurs obstacles s'opposent à la découverte et à la mise au point de nouvelles molécules anthelminthiques pour les animaux de rente. En effet, il semble que le marché des anthelminthiques bovins ne soit pas assez lucratif pour les firmes pharmaceutiques (Besier, 2007). Tout d'abord parce que les maladies humaines causées par les helminthes ne concernent que les pays pauvres et sont rarement mortelles. Le marché des anthelminthiques à usage humain est donc peu rentable contrairement au marché des antibiotiques humains par exemple. Ceci limite les programmes de recherche de produits anthelminthiques (Geary *et al.*, 1999).

Ensuite, la méconnaissance des mécanismes de fonctionnement des anthelminthiques existant rend plus difficile et donc plus coûteux le « screening » de nouvelles molécules (Geary *et al.*, 1999).

Enfin, le marché du médicament pour l'animal de compagnie étant, lui, de plus en plus lucratif, les programmes de recherche de nouvelles molécules pour cette catégorie d'animaux concurrencent les programmes de recherche pour le marché de la production animale (Geary *et al.*, 1999). Le meilleur exemple de ce phénomène est celui du PF1022 A et de l'emodepside, son dérivé semi-synthétique.

Il s'agit de deux nouvelles molécules anthelminthiques isolées au début des années 1990. Le PF1022 A, qui est la molécule naturelle, est secrétée par le champignon *Mycelia sterilia*. Ces deux anthelminthiques ont prouvé leur efficacité face aux nématodes des rongeurs, des chats, des chiens, des ovins, des bovins et des chevaux (Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2000 ; Harder *et al.*, 2003). Ils sont également efficaces sur des souches d'*Haemonchus contortus* et de *Cooperia oncophora*, résistantes aux benzimidazolés et à l'ivermectine, chez les moutons et les bovins (Harder *et al.*, 2003). En effet, leur mode d'action semble être différent de celui des grandes classes d'anthelminthiques connues : leur cible serait un récepteur « latrophilin-like » des nématodes.

Les premières études ont montré qu'ils interféraient avec la transmission de l'influx nerveux au niveau de la jonction neuro-musculaire. Cette interférence empêche le déroulement de trois activités principales : la nutrition, en bloquant le pompage pharyngé, la locomotion, en bloquant les muscles du corps, et la reproduction, en bloquant les muscles de la ponte (Harder *et al.*, 2003 ; Bool *et al.* 2006). Jusqu'à présent, la recherche s'est concentrée sur la mise au point de traitements anthelminthiques utilisant ces composés, pour les animaux de compagnie et en particulier pour les chats. Aucune spécialité n'est à ce jour disponible pour les ovins et les bovins (Besier, 2007).

L'élaboration de moyens pour augmenter l'efficacité des anthelminthiques déjà existant est une alternative à la découverte de nouvelles molécules.

4.2. Augmenter l'efficacité des molécules anthelminthiques actuelles

4.2.1. En agissant sur l'hôte

Le but de ces méthodes est d'apporter des modifications chez l'hôte, pour provoquer une augmentation de la biodisponibilité de l'anthelminthique administré et accroître son efficacité.

4.2.1.1. Augmenter l'efficacité de l'anthelminthique par des moyens physiologiques

Ali et Hennessy (1995) ont montré que chez les moutons, une réduction de la consommation alimentaire pendant 36h avant et après traitement permettait d'accroître l'efficacité de l'oxfendazole. Celui-ci était administré par voie orale ou intra-ruminale contre *Trichostrongylus colubriformis* et *Haemonchus contortus*. Ce phénomène a également été observé chez les bovins (Sanchez *et al.*, 1997) pour les benzimidazolés et chez les ovins pour l'ivermectine (Ali et Hennessy, 1996). Le ralentissement du transit faisant suite à la restriction alimentaire serait à l'origine d'une augmentation du temps de séjour des anthelminthiques dans l'intestin, et donc d'un contact prolongé avec les nématodes. Le ralentissement du transit permettrait également une augmentation de l'absorption de l'anthelminthique par la voie intestinale et donc une augmentation de sa biodisponibilité. Tout ceci contribuerait à accroître l'efficacité du traitement.

4.2.1.2. Augmenter l'efficacité de l'anthelminthique par des moyens chimiques

Certaines molécules ont la capacité d'influer sur le métabolisme des molécules anthelminthiques et de limiter leur dégradation ou leur élimination de l'organisme de l'hôte.

Ainsi le **méthimazole**, molécule antithyroïdienne, a été utilisé pour augmenter la biodisponibilité du fenbendazole et de l'oxfendazole (Lanusse *et al.*, 1995) : il entraîne une augmentation de la concentration plasmatique de l'anthelminthique et un retard dans l'apparition de ses métabolites.

De même le **piperonyl butoxide**, un inhibiteur du cytochrome P450 a été utilisé chez les moutons et les chèvres, associé au fenbendazole (Benchaoui et McKellar, 1996). Chez les moutons, la biodisponibilité du fenbendazole était significativement plus élevée en présence de piperonyl butoxide. Elle était multipliée par trois chez les chèvres. Cette plus forte biodisponibilité était associée à une augmentation d'efficacité du traitement anthelminthique contre *Ostertagia circumcincta* et *Haemonchus contortus*. Le piperonyl butoxide est capable d'inhiber deux réactions de métabolisation du fenbendazole : la sulfonation et la sulphoxydation.

4.2.2. En agissant sur les nématodes via la glycoprotéine P

Comme nous l'avons déjà vu, la glycoprotéine P est impliquée dans la résistance aux anthelminthiques. Présentes dans la membrane des cellules des nématodes, elles jouent le rôle de pompe d'efflux et évacuent vers l'extérieur les xénobiotiques dangereux comme les anthelminthiques. Certaines molécules ont le pouvoir d'inhiber ces glycoprotéines P et on a tenté de les utiliser pour lutter contre la résistance développée par les nématodes. Parmi ces molécules, le **vérapamil** a été le plus étudié.

4.2.2.1. Le vérapamil

Le vérapamil est une molécule qui a la faculté de bloquer les canaux calcium. Il est utilisé dans le traitement des angines de poitrine et des arythmies supraventriculaires en médecine humaine (Lankford et Bais, 1995). Sa structure chimique est présentée dans la figure 5.

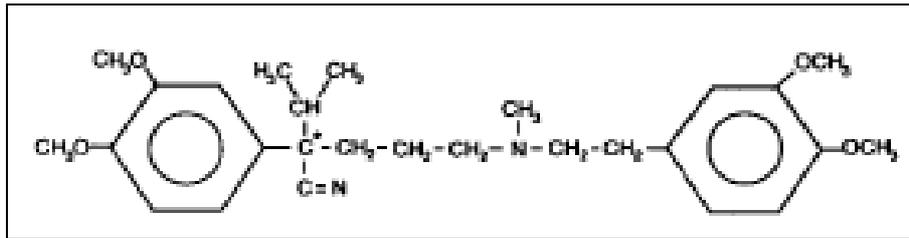


Figure 5 : structure chimique du vérapamil. (Lankford et Bais, 1995).

Le vérapamil est également un **inhibiteur compétitif de la glycoprotéine P**. Cette propriété est utilisée pour la réversion des résistances multiples aux traitements anticancéreux, en médecine humaine (Tsuruo *et al.*, 1981). En parasitologie vétérinaire, le vérapamil a été utilisé pour démontrer le rôle de la glycoprotéine P dans la résistance des nématodes, notamment aux lactones macrocycliques (Xu *et al.*, 1998).

Son action inhibitrice de la glycoprotéine P est intéressante pour l'augmentation de l'efficacité des anthelminthiques.

4.2.2.1.1. *Le vérapamil augmente l'efficacité des anthelminthiques et permet une réversion de la résistance*

Le test in-vitro d'éclosion des œufs permet de mesurer l'action du vérapamil sur les nématodes (Kerboeuf *et al.*, 2003). Le vérapamil augmente l'efficacité du thiabendazole et de l'albendazole contre les œufs d'*Haemonchus contortus* (Beugnet *et al.*, 1997 ; Kerboeuf *et al.*, 1999). L'augmentation de l'effet ovicide est observée chez les souches résistantes et non résistantes, cependant le vérapamil est d'autant plus efficace que le degré de résistance des souches est élevé. Ce phénomène, observé pour les cellules cancéreuses, est attribué à une compétition entre le vérapamil et la molécule du traitement, pour les sites de fixation sur les glycoprotéines P. De même, il apparaît que l'effet d'augmentation de l'efficacité est d'autant plus fort que la quantité d'anthelminthique administrée est faible (Kerboeuf *et al.*, 2003).

En 1998, Xu *et al.* démontrent que chez des gerbilles parasitées par des vers *Haemonchus contortus* résistants, l'administration de vérapamil associé à la moxidectine ou à l'ivermectine augmente l'efficacité du traitement. L'efficacité déterminée par bilan parasitaire passait de 70 à 96 % pour la moxidectine, et de 80 à 93 % pour l'ivermectine en présence de vérapamil.

Ces observations ont également été réalisées chez les rats et les moutons (Alvinerie *et al.*, 1999 ; Molento et Prichard, 1999). Cependant, dans ces études *in vivo*, il n'a pas été possible de savoir si l'augmentation de l'efficacité des traitements anthelminthiques était due à l'action du vérapamil sur les nématodes ou sur les hôtes.

4.2.2.1.2 *Le vérapamil augmente aussi la biodisponibilité des anthelminthiques chez l'hôte*

Les glycoprotéines P sont présentes en grand nombre dans la muqueuse intestinale et sur l'épithélium des canaux biliaires chez les mammifères. Elles jouent également le rôle de transporteur multiple pour les xénobiotiques. Elles contribuent à l'élimination importante des lactones macrocycliques dans les fèces (Hennessy *et al.*, 2000 ; Laffont *et al.*, 2002).

Le vérapamil, inhibiteur compétitif de la glycoprotéine P, permet d'augmenter la biodisponibilité de l'ivermectine chez le rat (Alvinerie *et al.*, 1999) et chez le mouton (Dupuy *et al.*, 2003 ; Molento *et al.*, 2004). Il permet d'augmenter la concentration intracellulaire de moxidectine à l'intérieur des hépatocytes de rat *in vitro* (Dupuy *et al.*, 2001).

La meilleure biodisponibilité des anthelminthiques chez l'hôte contribue certainement à une augmentation de l'efficacité du traitement contre les nématodes : en effet ceux-ci se retrouvent exposés pendant une durée plus longue à une plus grande quantité d'anthelminthiques.

4.2.2.1.3. *Obstacles à l'utilisation du vérapamil dans la réversion de la résistance aux anthelminthiques (Von Samson-Himmelstjerna et Blackhall, 2005)*

Dans la lutte contre la résistance aux anticancéreux, le vérapamil et les autres modulateurs de la Pg-P comme les cyclosporines ont posé certains problèmes : en raison de la faible affinité de leur liaison avec la Pg-P, il était nécessaire de les administrer en grande quantité pour obtenir la réversion de la résistance ce qui conduisait à une forte toxicité pour les patients. Des dérivés de ces premières molécules ont alors été mis au point : il s'agissait des modulateurs de seconde génération comme le dexvérapamil. Ils présentaient une plus forte activité *in vitro* mais malheureusement pas *in vivo*.

D'autre part les modulateurs de première et de seconde génération présentaient le défaut d'être également substrats d'enzymes du cytochrome P450. Ces enzymes intervenant dans la détoxification et l'élimination des xénobiotiques chez les animaux traités, il était difficile de déterminer des doses de traitement à la fois efficaces et non toxiques.

Des modulateurs de troisième génération, qui n'influaient ni sur les enzymes du cytochrome P450, ni sur les autres transporteurs ABC, ont été mis au point.

Pour lutter contre la résistance aux anthelminthiques, il sera également nécessaire de mettre au point des modulateurs de la Pg-P ayant des effets secondaires limités. D'autres aspects comme les aspects économiques devront également être étudiés.

4.2.2.2. Autres molécules modulatrices de la glycoprotéine P

En 2003, Dupuy *et al.* démontrent que l'administration de **quercétine**, un flavonoïde naturel, associée à la moxidectine, accroissait la biodisponibilité de cette dernière chez le mouton. La quercétine est également un modulateur de la glycoprotéine P.

De même, il a été démontré qu'une **lectine** interagissait avec la glycosylation de la glycoprotéine P. Associée au thiabendazole elle permettait d'atteindre jusqu'à 50 % de réversion de la résistance contre des œufs de nématodes résistants (Kerboeuf *et al.*, 2002).

4.2.3. Exemple du loperamide

Le **loperamide** appartient à la famille des opioïdes comme la morphine. Il est utilisé dans le traitement des diarrhées chez les animaux et chez l'homme car **il augmente le temps de transit du contenu du tube digestif et diminue les sécrétions digestives** (Schiller *et al.* 1984 ; Fioramonti *et Bueno*, 1987).

Il a éveillé l'intérêt des chercheurs à cause de sa capacité à modifier les caractéristiques pharmacocinétiques de la moxidectine et de l'ivermectine.

4.2.3.1. Propriétés pharmacocinétiques de la moxidectine et de l'ivermectine

4.2.3.1.1. Une distribution tissulaire large

L'évolution de la concentration plasmatique et de la distribution tissulaire des lactones macrocycliques ont été caractérisées après administration par une injection sous-cutanée chez le rat, les bovins et chez le mouton (Bogan et McKellar, 1988 ; Chiu *et al.*, 1990 ; Lifschitz *et al.*, 1999 a ; Lifschitz *et al.*, 1999 b, Lifschitz *et al.*, 2000).

La moxidectine et l'ivermectine, très lipophiles, sont rapidement absorbées après injection (Lifschitz *et al.*, 1999 a et b ; Lanusse *et al.*, 1997). La moxidectine est plus rapidement absorbée (Lanusse *et al.*, 1997). Le caractère extrêmement lipophile des lactones macrocycliques est également responsable d'une distribution très large depuis le courant sanguin à tous les tissus et notamment aux tissus graisseux. Cette large distribution tissulaire permet une forte concentration de l'anthelminthique dans la muqueuse de l'abomasum et de l'intestin grêle, où il peut atteindre les nématodes (Lifschitz *et al.*, 2000). Grâce à ses propriétés lipophiles, la moxidectine est présente en plus grande quantité dans la muqueuse digestive que dans le fluide digestif (Lifschitz *et al.*, 1999 a). Cette particularité contribue à son efficacité contre les adultes et les stades immatures des nématodes digestifs. Le tissu graisseux joue le rôle de réservoir d'anthelminthique et permet le relargage de la molécule dans le courant sanguin et les tissus cibles (Lifschitz *et al.*, 1999 a et b, et Lifschitz *et al.*, 2000). L'ivermectine et la moxidectine sont également retrouvées en grande quantité dans la peau où elle sont actives contre les arthropodes agents de gale (Lifschitz *et al.*, 1999 a et b).

On observe une forte corrélation entre la concentration plasmatique d'ivermectine et de moxidectine et leur concentration dans les tissus cibles (Lanusse et Prichard, 1993 ; Lifschitz *et al.*, 1999 a ; Lifschitz *et al.*, 1999 b).

4.2.3.1.2. Une excrétion biliaire et intestinale majoritaire

Les lactones macrocycliques présentes dans le tube digestif sont largement recyclées par le cycle entéro-hépatique. Chez le mouton, le tiers de la quantité de doramectine excrétée dans la bile a déjà été recyclée par le cycle entéro-hépatique (Hennessy *et al.*, 2000). Pour la doramectine comme pour la moxidectine, la métabolisation par le foie est limitée et l'anthelminthique est majoritairement excrété sous sa forme initiale dans la bile, (Lifschitz *et al.*, 1999 a ; Hennessy *et al.*, 2000) contrairement à ce qui est observé pour les benzimidazolés (Hennessy *et al.*, 1993).

Chez le rat, Lifschitz *et al.* observent que l'ivermectine est très fortement excrétée dans le jéjunum et l'iléon, et atteint une forte concentration dans la lumière de l'intestin (Lifschitz *et al.*, 2003). L'excrétion digestive est supérieure à l'excrétion biliaire (Laffont *et al.*, 2002).

Pour les lactones macrocycliques, les deux voies majeures d'excrétion sont donc la voie biliaire et les fèces.

4.2.3.2. Le lopéramide augmente la biodisponibilité de la moxidectine et de l'ivermectine chez l'hôte

4.2.3.2.1. Moxidectine

En 2002, Lifschitz *et al.* démontrent que le lopéramide augmente la concentration plasmatique de la moxidectine chez les bovins. Ceci est illustré par la figure 6. On voit que la concentration plasmatique de moxidectine est significativement plus élevée dans les jours suivant le traitement, lors d'administration conjointe de lopéramide.

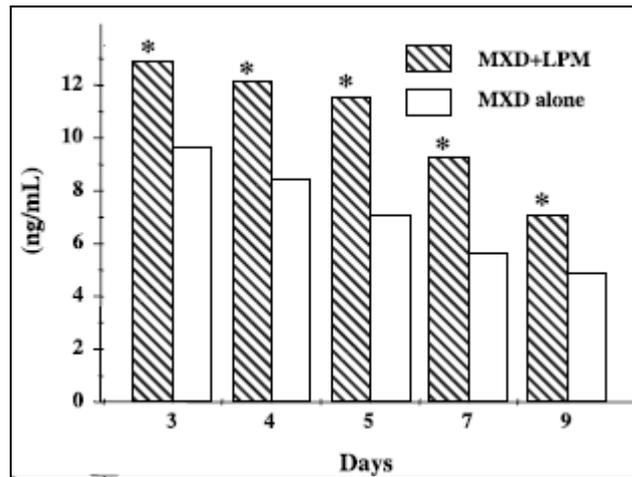


Figure 6 : comparaison entre les concentrations plasmatiques de la moxidectine administrée seule (MXD alone) et coadministrée (MXD+LPM) avec du lopéramide, à des bovins entre le 3ème et le 9^{ème} jour après traitement. L'étoile signifie une différence significative entre les deux concentrations au risque $\alpha=5\%$. (Lifschitz *et al.*, 2002)

La concentration plasmatique de moxidectine est fortement corrélée à la concentration de moxidectine dans le tube digestif (Lifschitz *et al.*, 1999 b). Le lopéramide induit donc une augmentation de la concentration de moxidectine au contact des nématodes du tube digestif (Lifschitz *et al.*, 2002).

Une part importante de moxidectine non métabolisée est excrétée dans la bile et dans les fèces (Zulalian *et al.*, 1994 ; Lifschitz *et al.*, 1999 b) : cette forte excrétion empêche une grande part de la moxidectine administrée d'avoir une activité contre les parasites et constitue une perte. Or, le lopéramide induit également une modification de l'élimination de la moxidectine dans les fèces : Lifschitz *et al.* (2002) ont montré que le lopéramide retardait l'élimination de la moxidectine dans les fèces comme illustré sur la figure 7. On voit que le délai avant le pic d'élimination de la moxidectine dans les fèces est prolongé de plusieurs jours, lors de l'administration concomitante de lopéramide.

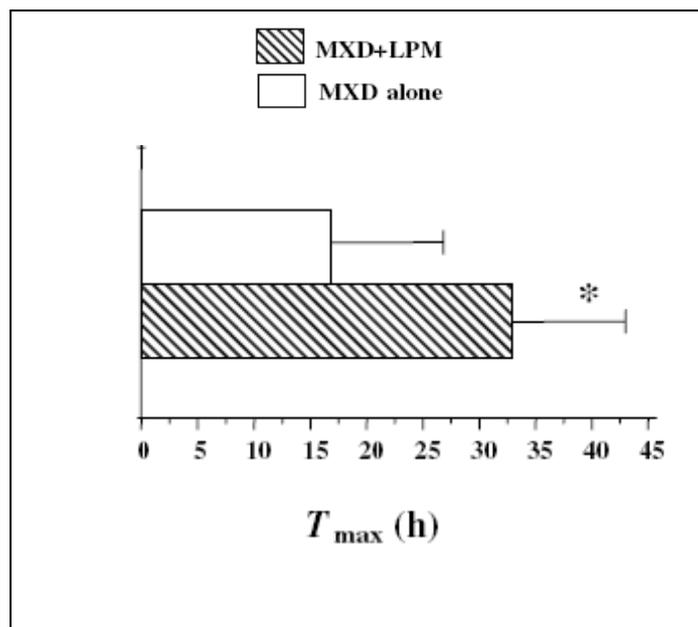


Figure 7 : pic de concentration de moxidectine éliminée dans les fèces, après administration de moxidectine seule (MXD alone) ou associée au loperamide (MXD+LPM). L'étoile signifie une différence significative entre les deux concentrations au risque $\alpha=5\%$.(Lifschitz *et al.*, 2002)

L'élimination différée du principe actif dans les fèces contribue également à augmenter la biodisponibilité de celui-ci chez l'hôte. Ceci contribue à accroître la quantité de moxidectine au contact des nématodes et à prolonger le temps de ce contact.

4.2.3.2.2. Ivermectine

L'influence du loperamide sur la pharmacocinétique de l'ivermectine a uniquement été évaluée chez le rat (Lifschitz *et al.*, 2003). Comme dans le cas de la moxidectine, il apparaît que le loperamide augmente la biodisponibilité de l'ivermectine. En effet, il a été observé une augmentation de la concentration plasmatique d'ivermectine et une diminution et un retard de l'excrétion dans les fèces lors d'administration conjointe de loperamide.

4.2.3.3. Mécanismes d'action du lopéramide

Deux mécanismes d'action peuvent expliquer l'action du lopéramide sur la biodisponibilité de l'ivermectine et de la moxidectine.

Le premier est lié aux **propriétés de ralentissement de la motricité du tube digestif** que possède le lopéramide. L'anthelminthique excrété par voie intestinale persisterait plus longtemps dans la lumière du tube digestif ce qui prolongerait son temps de réabsorption et de recyclage par la voie entéro-hépatique (Lifschitz *et al.*, 2002).

En plus de favoriser le recyclage par la voie entéro-hépatique, le ralentissement du transit contribue à limiter l'évacuation de l'anthelminthique dans les fèces. Le contact entre anthelminthique et nématodes parasites est ainsi prolongé.

Le deuxième mécanisme est lié aux **propriétés d'interaction du lopéramide avec la glycoprotéine P**. En effet, lors de l'étude de la pénétration des opioïdes dans le système nerveux central, il a été démontré que le lopéramide était un bon substrat de la glycoprotéine P (Wandel *et al.*, 2002) : cette propriété contribue à le rendre plus sûr pour le traitement des diarrhées. En effet, grâce aux glycoprotéines P présentes en grand nombre au niveau de la barrière hémato-méningée, le lopéramide pénètre difficilement dans le système nerveux central et ne provoque pas, contrairement aux autres opioïdes, des effets neurologiques indésirables (Schinkel *et al.*, 1996). De plus, il a été observé que le lopéramide agissait comme inhibiteur compétitif de la glycoprotéine P, à faible concentration, pour certaines molécules comme la digoxine (Wandel *et al.*, 2002 ; Crowe et Wong, 2003).

La glycoprotéine P, qui joue le rôle de pompe d'efflux, est présente en grand nombre dans les cellules des canaux biliaires et dans les cellules de la muqueuse digestive. Par compétition pour la liaison au récepteur, le lopéramide pourrait agir comme inhibiteur compétitif de la glycoprotéine P pour l'anthelminthique, comme le fait le vérapamil. Il modifierait ainsi les propriétés pharmacocinétiques de l'anthelminthique, en retardant, entre autre, son excrétion par la voie biliaire ou par la voie intestinale (Lifschitz *et al.*, 2002).

Les modes d'action potentiels du loperamide, susceptibles d'expliquer l'augmentation de biodisponibilité de la moxidectine et de l'ivermectine, sont représentés sur le schéma de la figure 8.

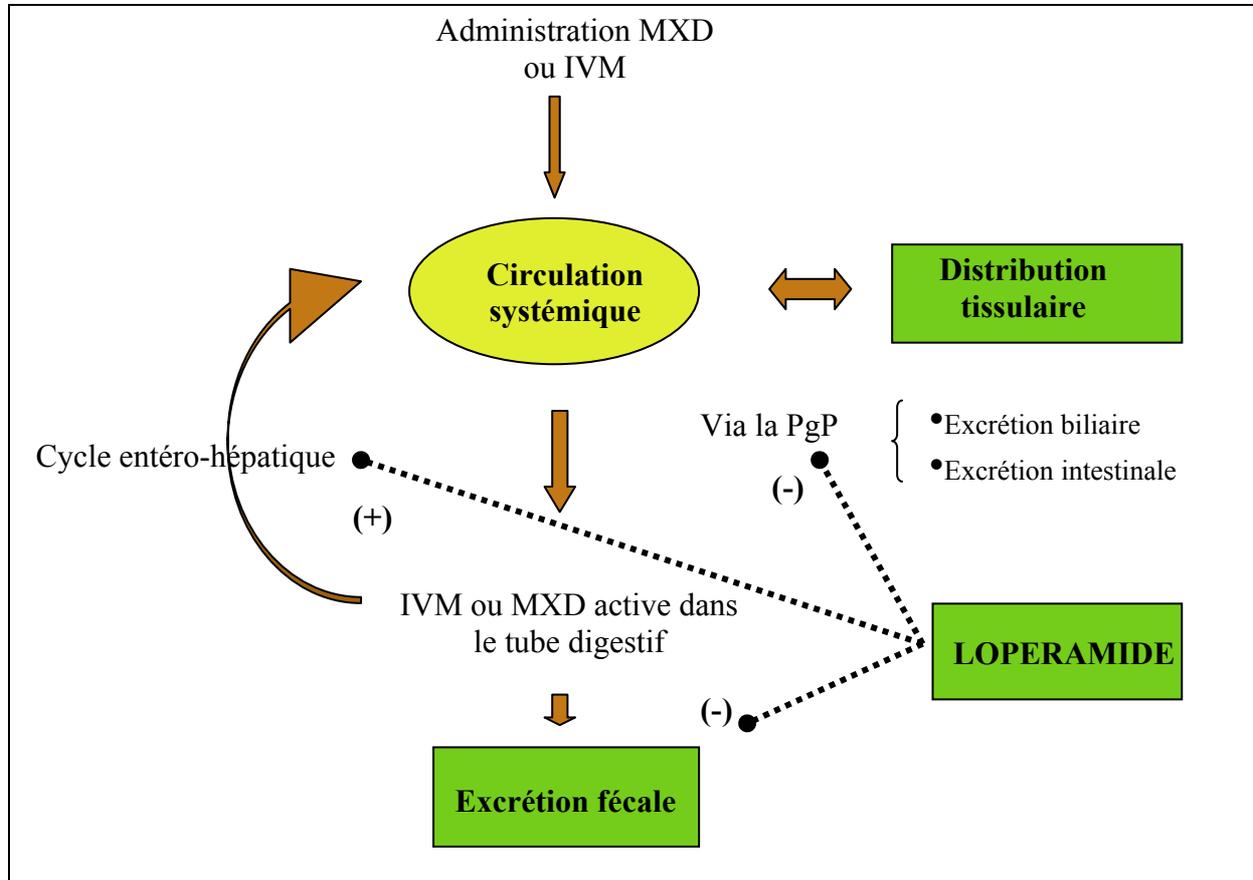


Figure 8 : schéma récapitulatif des mécanismes potentiels d'action du loperamide sur les propriétés pharmacocinétiques de la moxidectine et de l'ivermectine.

(Lifschitz *et al.*, 2002)

Les anthelminthiques étant le principal mode de lutte contre les nématodes des bovins, des méthodes sont recherchées pour contrecarrer la résistance et augmenter leur efficacité .

Il est possible d'agir sur les nématodes en bloquant leur système d'évacuation des xénobiotiques : c'est ce que réalise le vérapamil, un inhibiteur de la glycoprotéine P.

Il est également possible d'agir sur l'hôte en essayant d'accroître la biodisponibilité des anthelminthiques, pour augmenter la quantité d'anthelminthique au contact des nématodes et prolonger le temps de ce contact. Une des molécules candidates pour modifier les caractéristiques pharmacocinétiques des anthelminthiques est le **lopéramide**. Par différents mécanismes, il est capable d'agir sur l'hôte en augmentant la concentration plasmatique de la moxidectine et de l'ivermectine et en limitant leur élimination.

Afin de voir si cette augmentation de biodisponibilité s'accompagne d'une augmentation d'efficacité sur des nématodes résistants, nous avons testé, *in vivo*, l'efficacité des traitements associant l'ivermectine au lopéramide et la moxidectine au lopéramide. Notre étude s'est déroulée dans une exploitation de « recria-ivernada » (engraissement) de la Pampa subhumide, en Argentine.

5. Etude de la modification de l'efficacité du traitement à la moxidectine et à l'ivermectine, apportée par l'administration concomitante de l'opéramide, à des bovins, contre des souches de nématodes résistants.

5.1. Objectifs détaillés de l'étude

Notre étude est le résultat d'une collaboration entre le laboratoire de pharmacologie de la Faculté Vétérinaire de Tandil, représenté par le docteur Lifschitz, et le département de parasitologie animale de l'INTA (Instituto Nacional de Técnica Agropecuaria : Institut National de Technique Agricole) d'Anguil. Les objectifs des actions d'investigation menées étaient les suivants :

- pour le laboratoire de pharmacologie de la Faculté Vétérinaire de Tandil : comparer l'évolution de la concentration plasmatique de la moxidectine et de l'ivermectine chez des bovins avec et sans traitement concomitant au l'opéramide
- pour les deux parties : savoir si l'administration de l'opéramide lors de traitement à la moxidectine et à l'ivermectine provoque une augmentation de leur efficacité sur des souches résistantes de nématodes chez les bovins
- pour le département de parasitologie vétérinaire de l'INTA : effectuer un suivi de l'évolution de l'efficacité des anthelminthiques dans une exploitation où la présence de souches résistantes aux lactones macrocycliques et aux benzimidazolés a été diagnostiquée.

Dans ce rapport, nous nous limiterons à la présentation des actions menées et des conclusions obtenues pour les deux derniers objectifs annoncés.

5.2. Matériels et méthodes

5.2.1. Matériels

L'étude a été réalisée dans l'exploitation de naissance et d'engraissement de bovins de Nueva Castilla située dans la Province de Buenos Aires, près de la ville de Trenque Lauquen (*cf* carte 2). Cette exploitation se situe dans la région de la Pampa subhumide.

Elle est caractérisée par sa très grande surface, 15 000 hectares, et par son nombre élevé d'animaux : 2000 vaches de naissance et 28 000 veaux et taurillons à l'engraissement.



Carte 2 : localisation géographique de la ville de Trenque Lauquen près de laquelle se situe l'exploitation où a lieu l'étude (source : site Internet de l'Instituto Primo Capraro).

Cette exploitation fait l'objet d'un suivi de la part de l'INTA. En 2004, la présence de souches résistantes de nématodes a été diagnostiquée pour la première fois.

Cette année là, les souches résistantes étaient les suivantes :

- nématodes du genre *Cooperia* pour l'ivermectine
- nématodes du genre *Ostertagia* pour l'albendazole (benzimidazolé)

95 taurillons récemment sevrés de 6 à 8 mois ont été mis à disposition par l'établissement, ainsi que des pâtures et un couloir de contention disposant d'une balance.

Pour évaluer l'efficacité des différentes molécules anthelminthiques, nous disposions de :

- Ivermectine sous forme injectable par voie sous-cutanée à la posologie de 200µg/kg (BAGOMECTINA ®)
- Moxidectine sous forme injectable par voie sous-cutanée à la posologie de 200µg/kg (CYDECTIN®)
- Lévamisolé sous forme injectable par voie sous-cutanée à la posologie de 8mg/kg (FOSFAMISOL ®)
- Albendazole par voie orale à la posologie de 7,5mg/kg (SURAZE®)

De plus le laboratoire de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Tandil disposait de l'opéramide sous forme injectable à la posologie de 0,4 mg/kg 3 fois, à 12 heures d'intervalle, par voie sous-cutanée.

5.2.2. Méthodes

L'évaluation de l'efficacité des différentes molécules a été effectuée selon la méthode de **FECRT** (Fecal Egg Count Reduction Test : test de réduction de l'excrétion fécale) : il s'agissait donc pour chaque molécule d'évaluer la diminution de l'excrétion fécale d'œufs par les taurillons, 10-14 jours après le traitement. Cette évaluation reposait sur le comptage d'œufs de nématodes dans les fèces des animaux au jour J0 et au jour J14.

Pour pouvoir évaluer l'efficacité des différents produits selon les genres de nématodes, nous avons réalisé des **coprocultures individuelles** pour identification des genres des larves. A partir des résultats de coprocultures, des calculs d'efficacité par genre ont été effectués : il s'agissait de la méthode L3CRT (L3 Count Reduction Test).

5.2.2.1 Schéma expérimental

L'étude s'est déroulée comme suit : deux journées sur le terrain ont été organisées. Elles étaient destinées à la réalisation des groupes de bovins, à l'application des traitements et aux prélèvements de fèces. La réalisation des coproscopies et des coprocultures nécessaires aux calculs d'efficacité s'est faite au laboratoire de l'INTA d'Anguil.

Premier contrôle et traitement (J0)

Cette première journée s'est déroulée en deux étapes :

- Identification et pesée

Les 95 animaux de l'étude ont été rassemblés à l'entrée du couloir de contention puis introduits 7 par 7 dans la zone de manipulation. Ils ont été identifiés par étiquette de couleur et ainsi séparés selon les 7 groupes indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 4 : répartition des animaux de l'étude dans les différents groupes et traitements administrés.

GROUPE	NOMBRE D'ANIMAUX DANS LE GROUPE	TRAITEMENT
IV	15	Ivermectine
IV/LP	10	Ivermectine + Lopéramide
MX	15	Moxidectine
MX/LP	10	Moxidectine + Lopéramide
BZ	15	Albendazole
LV	15	Lévamisole
NT	15	Groupe contrôle sans traitement

A chaque passage de 7 animaux dans le couloir, un animal a été assigné à chaque groupe pour ne pas effectuer une sélection en fonction du caractère des animaux (ce sont toujours les animaux les plus craintifs qui pénètrent en dernier dans le couloir).

Les animaux des groupes MX/LP et IV/LP ne sont que 10 dans chaque groupe : il a été décidé de réduire le nombre des animaux dans ces groupes à cause du coût élevé du Iopéramide.

Une fois introduits dans le couloir, les animaux ont été identifiés à l'aide d'une étiquette de couleur portant un numéro.

Avant sa sortie du couloir, chaque animal a été pesé. L'évaluation du poids a été réalisée par le même opérateur, pour tous les animaux.

- Prélèvements

Des fèces ont été récupérées directement dans le rectum à l'aide d'un sac plastique. Chaque sac a été identifié avec une étiquette portant le numéro de l'animal correspondant.

- Application du traitement

Dans chaque groupe, la quantité de produit à administrer a été calculée en fonction du poids de chaque animal et de la posologie indiquée sur la notice.

Ensuite les animaux ont été repassés une seconde fois dans le couloir de contention. Au cours de ce second passage, les différents anthelminthiques ont été appliqués aux animaux selon les groupes et la quantité nécessaire déjà calculée.

Deuxième contrôle (J14)

14 jours après la première journée de prélèvement, une deuxième journée sur le terrain a été organisée.

Les 95 animaux ont encore une fois été passés dans le couloir de contention : au cours de ce passage, des fèces ont été prélevées dans le rectum comme à J0 et disposées dans des sacs plastiques étiquetés.

5.2.2.2. Réalisation des mesures

A partir des prélèvements de fèces effectués à J0 et J14, nous avons réalisé pour chaque animal un comptage des œufs de nématodes présents dans les fèces et une coproculture.

5.2.2.2.1. Coproscopie ou comptage d'œufs dans les fèces.

- Préparation

Lors du retour au laboratoire, les fèces ont été traitées de la façon suivante :

5g de matières fécales de chaque animal ont été pesés sur une balance digitale et introduits dans un petit pot à prélèvement identifié avec le numéro de l'animal et son groupe. 5 mL environ de liquide physiologique a été ajouté dans chaque pot pour éviter la dessiccation des œufs de nématodes. Les pots ont ensuite été disposés au réfrigérateur pour être conservés jusqu'au lendemain.

- Comptage

Afin d'estimer la quantité d'œufs excrétés par gramme de matière fécale de chaque animal, nous avons utilisé la technique modifiée de Mac Master que nous rappelons ici :

Technique de Mac Master modifiée (Suarez, 1997)

Les œufs sont récupérés en écrasant 5 g de matière fécale dans une solution saturée de chlorure de sodium dans un mortier. Le mélange est transvasé dans un bécher pour être complété avec de la solution de NaCl jusqu'à 100mL.

La solution obtenue est filtrée à l'aide d'un tamis pour retirer les grosses particules. Ensuite, tout en agitant avec une tige métallique, le filtrat est prélevé quatre fois de suite pour remplir les 4 logettes de la cellule de Mac Master. Grâce à la solution saturée de NaCl, les œufs plus légers remontent vers le haut et se colle au plafond de la cellule. Ils sont alors visibles à l'objectif 4 du microscope et peuvent être comptés facilement. Le calcul effectué pour obtenir le nombre d'œuf par gramme de matière fécale est le suivant :

- chacune des 4 logettes de la cellule de MacMaster a un volume de 0,5ml : donc on observe 2 mL en tout au microscope
- or en diluant 5 g de fèces dans 100mL d'eau, on obtient 0,1 g de fèces dans 2ml.

Pour obtenir le nombre d'œufs comptés par gramme de matière fécale, il suffit donc de multiplier par 10 le résultat obtenu.

Nous avons donc estimé l'excrétion fécale de chaque animal au jour J0 et 14 jours (J14) après le traitement en utilisant cette technique.

5.2.2.2. Coproculture

- Préparation des prélèvements et coproculture

Au retour des journées sur le terrain, les fèces ont été traitées de la façon suivante :

5g de matières fécales de chaque animal ont été pesés sur la balance et disposés dans des boîtes de Pétri en plastique. 2 cuillérées à soupe de vermiculite et quelques millilitres d'eau ont été ajoutés et mélangés aux fèces. Les boîtes de Pétri étaient identifiées avec le numéro et le groupe de chaque animal. Ensuite les boîtes ont été disposées dans la salle de coprocultures à une température constante de 24 °C.

Les fèces ont ainsi été cultivées pendant 2 semaines en étant oxygénées et humidifiées régulièrement.

Après deux semaines, les larves ont été récupérées selon la technique de Baermann que nous rappelons maintenant.

Technique de Baermann (Suarez 1997): cette technique comprend l'utilisation de l'appareil de Baermann. Il s'agit d'un entonnoir sur lequel est disposé un tamis avec un morceau de papier filtre. Au bout de l'entonnoir se situe un tube à essai.

Le mélange fèces + vermiculite est disposé sur le papier filtre qui sert à retenir les grosses particules. De l'eau est rajoutée jusqu'à recouvrir le mélange. Après 24H les larves qui migrent vers le fond du tube sont récupérées dans le tube à essai.

Les larves ont donc été récupérées selon cette technique dans des tubes à essai portant le numéro et le groupe de chaque animal. Ces tubes à essai ont été ensuite disposés au réfrigérateur pour conserver les larves avant le début de l'identification.

- Identification des larves

Pour identifier les genres des larves, celles-ci ont été transvasées du tube à essai vers un récipient rectangulaire transparent dans lequel elles pouvaient être plus facilement repêchées à la pipette, à l'aide d'une loupe binoculaire. Les larves ont ensuite été identifiées au microscope entre lame et lamelle après avoir été tuées à l'iode.

Le travail d'identification a été effectué sur 20 larves pour chaque tube à essai. La répartition des 20 larves observées dans les différents genres a ensuite été exprimée en pourcentage, et ce pourcentage a été rapporté à la valeur d'excrétion fécale (opg) de chaque animal. Ce calcul nous a permis d'obtenir un nombre de larves de chaque genre par gramme de fèces pour chaque animal, au jour J0 puis au jour J14

Seules les larves L3 ont été identifiées, et ce en utilisant les critères suivants : longueur et forme de la queue (la queue étant composée de la queue de larve et de la queue de la gaine), présence d'un filament, forme de la tête et présence ou absence de capsule buccale. Le nombre de cellules de la larve est un critère secondaire qui ne nous a pas servi dans notre étude, mais qui permet d'identifier les larves des genres *Nematodirus* et *Oesophagostomum*. Ces différents critères sont représentés sur la figure 9.

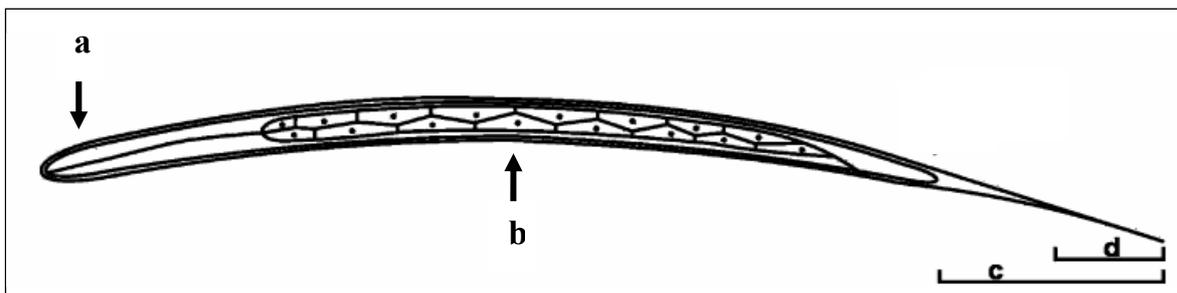


Figure 9 : dessin d'une larve infectante de nématodes de la famille des Trichostrongylidés. Les critères utilisés pour l'identification sont la forme de la tête (a), le nombre de cellules à l'intérieur de la larve (b), la forme et la longueur de la queue (c), la présence et la longueur du filament (d) (dessin : Van Wyk *et al.*, 2004).

Le premier caractère observé est la longueur de la queue : *Trichostrongylus* et *Ostertagia* ont une queue courte, *Haemonchus* et *Cooperia* ont une queue plus longue et un filament plus long (Niec, 1968).

Pour différencier *Trichostrongylus* et *Ostertagia*, on s'intéresse ensuite à la forme de la queue de la gaine et à la forme de la tête : *Ostertagia* a une queue plus large et un peu plus arrondie à la base que *Trichostrongylus*. La forme de la tête d'*Ostertagia* est plus rectangulaire que celle de *Trichostrongylus* qui possède une tête plus arrondie. Enfin, la capsule buccale est visible chez *Ostertagia* alors qu'elle ne l'est pas chez *Trichostrongylus* (Niec, 1968).

Les genres *Haemonchus* et *Cooperia* se différencient facilement grâce à une structure anatomique particulière que possède le genre *Cooperia*. Cette structure se voit en faisant varier la mise au point et forme une image en «paire de lunettes» dans la tête (Niec, 1968).

Le genre *Nematodirus* et le genre *Oesophagostomum* ont également été recherchés. *Nematodirus* est reconnaissable à la queue longue et au très long filament qui le caractérisent. Il est également possible de reconnaître les larves de ce genre grâce aux 8 cellules qui les composent. Les larves des autres genres possèdent 16 cellules, les larves du genre *Oesophagostomum* quant à elles possèdent 28 cellules (Niec, 1968).

5.2.2.3. Calculs de l'efficacité

5.2.2.3.1. Méthode FECRT (*Fecal Egg Count Reduction Test*)

Les résultats des comptages d'œufs peuvent être exploités selon 3 méthodes de calcul.

Si on considère que la moyenne de l'excrétion fécale du groupe traité se nomme T1 avant le traitement et T2 14 jours après le traitement, tandis que chez le groupe non traité ces deux valeurs se nomment respectivement C1 et C2, les différentes méthodes peuvent être décrites comme suit :

- la méthode de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) : cette méthode consiste à calculer un taux de réduction entre l'excrétion fécale post-traitement chez les animaux non traités et chez les animaux traités :

Efficacité = $\frac{(C2-T2)}{C2} \times 100$. Dans le cas de cette formule, on parle de résistance lorsque l'efficacité est inférieure à 95 % et lorsque la borne inférieure de l'intervalle de confiance (risque d'erreur $\alpha = 0,05$) est inférieure à 90 % (Méthode proposée par Coles *et al.*, 1992)

- la méthode Avant/Après : cette méthode consiste à calculer un taux de réduction entre l'excrétion fécale pré-traitement et post-traitement uniquement chez les animaux traités :

Efficacité = $\frac{(T1-T2)}{T1} \times 100$ (Cristel et Suarez, 2007)

T1

- la méthode ABOIT : cette méthode prend en compte l'excrétion fécale pré et post-traitement des animaux traités et des animaux non traités :

Effacité = $\frac{(C2/C1) - (T2/T1)}{(C2/C1)} \times 100$.

Dans le cas de cette formule, on parle de résistance lorsque l'efficacité est inférieure à 90 %. (Méthode de Abott modifiée par Dash en 1988 ; Suarez et Cristel, 2007).

Ces trois calculs ont été effectués pour chaque groupe en comparant avec le groupe témoin non traité pour les méthodes WWAVP et Abott.

5.2.2.3.2. Méthode L3CRT (L3 Count Reduction Test)

Les trois formules explicitées ci-dessus ont été utilisées pour calculer l'efficacité de chaque traitement en fonction des genres de nématodes. Les calculs sont effectués à partir de la moyenne par groupe des résultats de coproculture individuelle.

La saisie des résultats et le calcul ont été réalisés à l'aide du logiciel EXCEL.

5.3. Résultats

5.3.1. Résultats des comptages d'œufs à J0 et J14.

Les résultats des moyennes par groupe des comptages d'œufs dans les fèces sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : moyennes des résultats de comptages d'œufs des groupes IV, IV/LP, MX, MX/LP, et NT. L'unité est le nombre d'œuf par gramme de fèces.

	J0	J14
IVM	510,71 +/- 39,17	53,57 +/- 4
IV/LP	584 +/- 93,66	35 +/- 4,97
MX	537 +/- 31,23	21,33 +/-1,33
MX/LP	271 +/- 29,40	9 +/- 1,29
NT	442,5 +/-29,64	70 +/-4,58
BZ	547,14 +/- 31,89	5,71 +/-0,54
LVM	411,82 +/- 16,14	2,73 +/- 0,59

Les moyennes des comptages d'œufs sont homogènes et proches de 500 opg/g de fèces dans tous les groupes sauf dans le groupe MX/LP. L'excrétion d'œufs est également homogène à l'intérieur des groupes.

On observe une forte diminution (environ 84 %) de la moyenne d'œufs excrétés dans les fèces dans le groupe témoin entre J0 et J14.

5.3.2. Résultats du FECRT

Les résultats du calcul de l'efficacité des traitements par la méthode FECRT sont représentés dans le tableau 6. L'intervalle de confiance du résultat obtenu par la méthode WAAVP n'a été indiqué que dans les cas où il était nécessaire pour conclure à la présence ou non de résistance.

Tableau 6 : résultats de l'efficacité des traitements obtenus pour les groupes IV, IV/LP, MX, MX/LP selon les 3 méthodes de calcul. Les résultats sont en pourcentage.

	WAAVP	Avant/Après	Abott
IV	23,5	89,5	33,7
MX	69,5	96	74,9
IV/LP	50	94	62,1
MX/LP	87,1	96,7	79
BZ	91,8 [96,5 ; 80,7]	99	93,4
LV	94,5 [99,2; 81,9]	98,9	93,2

On observe la présence de résistance aux traitements à la moxidectine et à l'ivermectine seule. Dans le cas des deux traitements, l'efficacité calculée est très inférieure aux seuils de 95% et de 90% respectivement pour la méthode WAAVP et la méthode Abott.

La résistance persiste pour la moxidectine et l'ivermectine lorsque les animaux ont reçu en même temps du loperamide : de la même manière que précédemment, la résistance est détectée par les deux méthodes WAAVP et Abott et les résultats sont très inférieurs aux seuils.

Pour le lévamisole et l'albendazole, le calcul de la WAAVP et le calcul de Abott donnent des résultats divergents. On aboutit à la conclusion de résistance par la première méthode et non par la seconde.

Les résultats obtenus par la méthode de calcul Avant/Après ne concordent pas avec ceux de la méthode de Abott et ceux de la WAAVP, sauf dans le cas de l'ivermectine.

5.3.3. Résultats du L3CRT

Tableau 7 : moyenne du nombre de larves des différents genres obtenus après coprocultures des fèces prélevées à J0, pour tous les animaux quelque soit le groupe. Les résultats sont exprimés en nombre de larves par gramme de fèces.

	<i>Ostertagia</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>
Moyenne	222,48 +/- 2,68	9,90 +/- 0,12	336,53 +/- 4,01	26,39 +/- 0,32

Les genres *Cooperia* et *Ostertagia* sont les deux genres dominants.

5.3.3.1. Efficacité de l'ivermectine

Tableau 8 : résultats du test L3CRT pour l'ivermectine. Les résultats sont en pourcentage.

	<i>Ostertagia</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>
WAAVP	100	-1060,7	4,1	100
Avant/Après	100	-54,7	77,7	100
Abott	100	-25,6	24,2	100

Les vers du genre *Cooperia* sont résistants à l'ivermectine. Les résultats d'efficacité sont négatifs pour les vers du genre *Trichostrongylus* car aucune larve de ce genre n'avait été détectée dans les fèces à J0 tandis qu'à J14 des larves de ce genre ont été mises en évidence.

5.3.3.2. Efficacité de l'ivermectine associée au lopéramide

Tableau 9 : résultats du test L3CRT pour l'ivermectine associée au lopéramide. Les résultats sont en pourcentage.

	<i>Ostertagia</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>
WAAVP	89,5	100	39,1	100
Avant/Après	99,2	100	92,5	100
Abott	92,6	100	74,6	100

La résistance des vers du genre *Cooperia* à l'ivermectine est toujours observée. *Ostertagia* apparaît comme résistant avec la méthode de calcul de la WAAVP, alors que ce genre était totalement éliminé avec le traitement à l'ivermectine seule. Le calcul selon la méthode de Abbott ne permet pas de conclure à la résistance. Il met uniquement en évidence une diminution de l'efficacité du traitement sur les vers du genre *Ostertagia*.

L'efficacité du traitement IVM/LP est de 100 % pour les vers du genre *Trichostrongylus*.

5.3.3.3. Efficacité de la moxidectine

Tableau 10 : résultats du test L3CRT pour la moxidectine. Les résultats sont en pourcentage.

	<i>Ostertagia</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>
WAAVP	100	87	60,8	100
Avant/Après	100	99,3	94,1	100
Abbott	100	99,4	80	100

Les vers du genre *Cooperia* sont résistants à la moxidectine. La méthode de la WAAVP donne un résultat inférieur au seuil pour *Trichostrongylus*. Par la méthode de Abbott, l'efficacité de la moxidectine sur *Trichostrongylus* est proche de 99,5 %.

5.3.3.4. Efficacité de la moxidectine associée au loperamide

Tableau 11 : résultats du test L3CRT pour la moxidectine associée au loperamide. Les résultats sont en pourcentage.

	<i>Ostertagia</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>
WAAVP	96,6 [99,5 ; 79,3]	100	87,8	100
Avant/Après	99,5	100	96,2	100
Abbott	95,6	100	87,3	100

La résistance des vers du genre *Cooperia* persiste malgré l'association de l'opéramide à la moxidectine. Comme pour l'ivermectine associée au l'opéramide, on observe l'apparition de la résistance des vers du genre *Ostertagia* avec la méthode de la WAAVP. Comme dans le cas du traitement IVM/LP, la méthode d'Abott met uniquement en évidence la diminution de l'efficacité du traitement sur les vers du genre *Ostertagia*.

L'efficacité du traitement MX/LP est de 100 % quelle que soit la méthode de calcul utilisée pour les vers du genre *Trichostrongylus*.

5.3.3.5. Efficacité de l'albendazole

Tableau 12 : résultats du test L3CRT pour l'albendazole. Les résultats sont en pourcentage.

	<i>Ostertagia</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>
WAAVP	68,2	100	98,6 [99,7 ; 93,8]	100
Avant/Après	98,1	100	99,6	100
Abott	82,7	100	98,8	100

Les vers du genre *Ostertagia* sont résistants à l'albendazole.

5.3.3.6. Efficacité du lévamisole.

Tableau 13 : résultats du test L3CRT pour le lévamisole. Les résultats sont en pourcentage.

	<i>Ostertagia</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>
WAAVP	79,5	100	99,9	100
Avant/Après	98,3	100	99,9	100
Abott	84,4	100	99,9	100

Les vers du genre *Ostertagia* sont également résistants au lévamisole.

5.3.4. Evolution de l'efficacité des traitements anthelminthiques durant trois ans à Nueva Castilla

Pour évaluer l'évolution de la résistance des nématodes depuis trois ans à Nueva Castilla, nous rappelons, dans le tableau suivant, les résultats obtenus lors des tests effectués en 2004 et en 2005, dans la même exploitation. Les genres résistants sont indiqués, et dans le cas de la détection de la résistance par une seule des méthodes de calcul, celle-ci est précisée.

Tableau 14 : récapitulatif de l'évolution de l'efficacité de l'ivermectine, de la moxidectine, des benzimidazolés et du lévamisole. L'efficacité a été évaluée par les méthodes FECRT et L3CRT.

	2004	2005	2006
Ivermectine	<i>Cooperia</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Cooperia</i> et <i>Trichostrongylus</i>
Moxidectine	Non testée	Non testée	<i>Cooperia</i> et <i>Trichostrongylus</i>
Benzimidazolés	<i>Ostertagia</i>	<i>Ostertagia</i> <i>Trichostrongylus</i> (résistant selon le calcul de la WAAVP)	<i>Ostertagia</i>
Lévamisole	Efficacité de 100 % sur tous les genres	<i>Ostertagia</i>	<i>Ostertagia</i>

5.4. Discussion

5.4.1. Infestation des taurillons

Les genres des nématodes observés au cours de cette étude correspondent aux genres régulièrement observés dans la Pampa (Suarez, 1990) : il s'agit des genres *Cooperia*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus* et *Haemonchus*. Comme ce qui a été décrit antérieurement dans la région, *Ostertagia* et *Cooperia* sont les genres dominants. Le genre *Haemonchus* a une prévalence plus faible et le genre *Trichostrongylus* est minoritaire.

5.4.2. Evolution de l'excrétion fécale dans le groupe témoin

Au cours des 14 jours d'intervalle entre les deux prélèvements, l'excrétion fécale d'œufs a naturellement diminué dans le groupe témoin qui n'avait reçu aucun traitement. La diminution a été importante : environ 85%. Cette diminution peut être due aux conditions climatiques particulières de l'année 2006, peu favorables au développement des larves sur la pâture. En effet, en 2006, la forte sécheresse a augmenté le taux de mortalité des formes libres dans les fèces et sur la pâture, en Avril et en Mai (hiver). A cause de cette mortalité, la disponibilité en larves sur la pâture devait être très faible, ce qui a limité l'infestation des taurillons. De plus, la population de vers présents dans les taurillons en Juin, certainement contractés plus tôt en Février et en Mars, devait être en décroissance à cause du développement de l'immunité des hôtes. L'immunité contribue également à faire baisser l'oviposition des femelles (Suarez, Gonella et Fort, 1989). Tout ceci aurait pu contribuer à la diminution de l'excrétion fécale d'œufs chez le groupe non traité. Cependant, les conditions climatiques défavorables et le développement de l'immunité expliquent difficilement, à eux seuls, cette chute d'excrétion d'œufs, qui a eu lieu en 14 jours seulement.

Cette diminution naturelle de l'excrétion fécale a vraisemblablement eu lieu également chez les animaux des groupes traités. Cette diminution, indépendante du traitement, influence le calcul d'efficacité par la méthode Avant/Après. En effet celle-ci ne tenant pas compte du groupe contrôle, elle conduit à une majoration de l'efficacité du traitement. Ceci explique la divergence constante observée entre les résultats d'efficacité calculés par cette méthode, avec ceux calculés par la méthode de Abott et celle de la WAAVP. En raison de l'erreur certainement induite par la décroissance naturelle de l'excrétion fécale, nous ne tiendrons pas compte des résultats obtenus par la méthode Avant/Après pour l'interprétation des résultats d'efficacité.

5.4.3. Sensibilité de la méthode FECRT, L3CRT

La méthode FECRT ne permet de détecter la résistance que lorsqu'une grande proportion de la population de nématodes est résistante. Elle est donc peu sensible. De plus, elle présente l'inconvénient d'être soumise à la forte variabilité individuelle de l'excrétion fécale, et à la corrélation imparfaite entre excrétion fécale d'œufs et population de nématodes parasites (Jacquiet *et al.*, 1997). Dans la Pampa, la corrélation entre opg et population parasite est bonne pour les jeunes bovins à l'engrais dans leur première année de pâturage (Suarez, 1997) ce qui est un avantage pour l'interprétation de nos résultats obtenus par FECRT. De même, cette bonne corrélation est un avantage pour la méthode L3CRT : les larves obtenues par coprocultures permettent d'obtenir un reflet proche de la répartition de la population parasite entre les différents genres.

Il est possible que la méthode L3CRT permette d'accroître la sensibilité de détection de la résistance. En effet, cette méthode permet d'évaluer la résistance pour chaque genre de nématode : il est possible que la résistance soit détectée dès que la proportion de vers résistants est grande au sein d'un même genre, même si le nombre de vers résistants n'atteint pas une grande proportion de la population totale de parasites. Cependant, il ne s'agit là que d'une hypothèse qui doit être confirmée par des mesures appropriées.

5.4.4. Evolution de l'efficacité des anthelminthiques au cours des trois dernières années à Nueva Castilla

Dans l'exploitation de Nueva Castilla, les nématodes parasites des bovins sont résistants aux trois principales familles d'anthelminthiques : aux lactones macrocycliques, aux benzimidazolés et au lévamisole.

5.4.4.1. Résistance aux lactones macrocycliques

La résistance à l'ivermectine avait été détectée dès 2004. Elle concernait jusqu'en 2005 le genre *Cooperia*. Ceci concorde avec les observations déjà réalisées en Argentine (Anziani et Fiel, 2005).

La résistance est observée pour un autre genre en 2006 : le genre *Trichostrongylus*. Aucune description de résistance dans le genre *Trichostrongylus* n'a été faite auparavant chez les bovins argentins. Chez les ovins en revanche, la résistance des nématodes de l'espèce *Trichostrongylus colubriformis* aux lactones macrocycliques est bien connue en Argentine, en Uruguay, et au Paraguay (Maciel *et al.*, 1996 ; Eddi *et al.*, 1996 ; Nari *et al.*, 1996).

La fréquence de ce vers et son excrétion d'œufs étant très faibles (Suarez, 1990 ; Mehlhorn, Duwel et Raether, 1993), la présence d'œufs de ce nématode dans les fèces après un traitement, amène une très forte suspicion de résistance.

Dans le groupe de l'ivermectine, les valeurs de L3CRT pour les vers *Trichostrongylus* sont négatives. Ceci est dû au fait qu'aucune larve de ce genre n'avait été détectée dans les fèces des animaux prélevées à J0 et que des larves ont été identifiées dans les fèces collectées à J14. Ce phénomène peut être dû à l'effet du hasard d'échantillonnage : l'identification des larves après coproculture n'a lieu que sur un échantillon de 20 larves. La probabilité de ne sélectionner aucune larve de *Trichostrongylus* dans le total de larves à J0, même si elles sont présentes, n'est pas négligeable. Cette probabilité diminue à J14 puisque les nématodes des genres *Ostertagia* et *Haemonchus* ont été éliminés et que le nombre total de larves dans les fèces a diminué.

L'efficacité de la moxidectine n'avait jamais été évaluée auparavant à Nueva Castilla car elle n'était pas utilisée dans les traitements. Les exploitations de naisseurs qui fournissent Nueva Castilla en taurillons ne l'utilisent pas non plus. Les nématodes présents à Nueva Castilla n'ont donc jamais été exposés à la moxidectine. Certains d'entre eux, cependant, sont résistants à cette molécule. Il s'agit des nématodes appartenant aux genres *Cooperia* et *Trichostrongylus*, comme dans le cas de l'ivermectine. On observe donc une résistance croisée des nématodes aux deux lactones macrocycliques. C'est un argument supplémentaire en faveur de l'hypothèse d'une similitude des mécanismes impliqués dans la résistance à l'ivermectine et à la moxidectine (Shoop *et al.*, 1995).

5.4.4.2. Résistance aux benzimidazolés.

Comme pour l'ivermectine, la résistance aux benzimidazolés avait été détectée dès 2004. Elle concernait le genre *Ostertagia*. En 2005, le test d'efficacité utilisant le calcul proposé par la WAAVP a permis de mettre en évidence la résistance des nématodes du genre *Trichostrongylus*.

De la même manière que pour l'ivermectine, la fréquence et l'intensité d'excrétion d'œufs de *Trichostrongylus* sont tellement faibles, que si des œufs sont détectés après un traitement, on peut fortement suspecter la résistance.

En 2006, la méthode L3CRT ne permet pas d'observer la résistance des vers *Trichostrongylus* aux benzimidazolés. La faible fréquence et la faible intensité d'oviposition des nématodes du genre *Trichostrongylus* sont encore une fois certainement à l'origine de ce défaut. Celui-ci met en évidence la faible sensibilité des tests fondés sur l'excrétion fécale d'œufs et leur forte dépendance des caractéristiques des vers.

5.4.4.3. Résistance au lévamisole.

La résistance des nématodes au lévamisole n'a été détectée qu'en 2005. Elle concernait alors les nématodes du genre *Ostertagia*. Cette observation est réitérée en 2006. La résistance au lévamisole est moins fréquente que la résistance aux benzimidazolés et aux lactones macrocycliques en Argentine (Caracostongolo *et al.*, 2005 ; Suarez et Cristel, 2007). Les enquêtes sur les traitements anthelminthiques ont montré que le lévamisole était moins fréquemment utilisé. A Nueva Castilla en revanche, le lévamisole est utilisé depuis 2004 (année de la détection de la résistance à l'ivermectine et aux benzimidazolés) pour traiter les taurillons quatre fois par an. Cette utilisation fréquente peut expliquer le développement rapide de la résistance face à cette molécule.

Pour tester l'efficacité du lévamisole par la méthode FECRT, Coles *et al.* (2006) recommandent d'utiliser un délai de 7 jours entre les deux prélèvements. En effet le lévamisole n'est pas actif contre les formes inhibées des vers du genre *Ostertagia*. Ces larves inhibées ont le temps, en 14 jours, de terminer leur développement et d'excréter des œufs qui faussent les résultats. Comme pour les autres groupes, nous avons réalisé le deuxième prélèvement à J14 pour le groupe traité au lévamisole. Au début de l'hiver, en Juin, la part des larves inhibées est faible (Suarez, 1990). On peut donc penser qu'elles ont pu influencer nos calculs et on peut suspecter la résistance au lévamisole des vers du genre *Ostertagia*, à Nueva Castilla. Cependant, à cause du risque d'erreur dû aux larves inhibées d'*Ostertagia*, cette suspicion de résistance au lévamisole est à confirmer : en réalisant un test FECRT avec un délai plus court, ou avec un test *in vitro* plus précis, comme le test d'inhibition du développement larvaire.

Le cas de l'exploitation de Nueva Castilla illustre l'impasse dans laquelle la majorité des exploitations bovines d'Argentine risque de se retrouver. La résistance est multiple, car elle est développée contre les trois principales familles d'anthelminthiques existantes. Elle est également multiple parce que certains nématodes ont développé des résistances à deux

molécules au moins. Cette exploitation illustre donc le besoin impérieux de prolonger la vie des molécules anthelminthiques, principal moyen de lutte contre les nématodes qui induisent des pertes de productions non compatibles avec la rentabilité de l'élevage.

5.4.5. Modification de l'efficacité de la moxidectine et de l'ivermectine par la co-administration de lopéramide.

L'administration de lopéramide n'a pas induit de réversion de la résistance à l'ivermectine et à la moxidectine. Le calcul proposé par la WAAVP donne 23,5% d'efficacité pour l'ivermectine et 69,5 % d'efficacité pour l'ivermectine associée au lopéramide. De la même manière, l'efficacité est de 50% pour la moxidectine, et de 87,1% pour la moxidectine associée au lopéramide. Même si la méthode FECRT ne permet pas d'évaluation quantitative de la résistance, on note une amélioration du résultat de l'efficacité en présence de lopéramide. Cependant, cette amélioration n'est pas suffisante pour arriver à la réversion de la résistance. Les résultats du dosage de la concentration plasmatique de moxidectine et d'ivermectine permettront de savoir si le lopéramide a effectivement provoqué une augmentation de la biodisponibilité des molécules anthelminthiques chez l'hôte.

Le test L3CRT montre également que la résistance des nématodes du genre *Cooperia* persiste malgré l'administration de lopéramide. Une fois encore, il semble que les résultats d'efficacité soient plus élevés en présence de lopéramide : 4,1 % d'efficacité pour l'ivermectine par le calcul de la WAAVP contre 39,1% en présence de lopéramide. Cette observation suggère également une augmentation de l'efficacité trop faible pour effectuer une réversion de la résistance.

Pour le genre *Trichostrongylus*, la résistance à l'ivermectine et à la moxidectine n'est plus détectable lors de l'administration concomitante de lopéramide. Avant de conclure à la réversion de la résistance des nématodes du genre *Trichostrongylus*, il faut recourir à une méthode plus sensible de détection et d'évaluation quantitative de la résistance, comme un bilan parasitaire. Si ce résultat est confirmé, il soulèvera des questions, comme celle de savoir pourquoi le lopéramide permet une réversion de la résistance chez *Trichostrongylus* et non chez *Cooperia*.

Une observation surprenante a également été réalisée dans cette étude : les nématodes du genre *Ostertagia*, pour lesquels l'ivermectine administrée seule présentait 100 % d'efficacité, sont résistants au traitement à l'ivermectine associée au loperamide. La résistance est détectée uniquement par le calcul de la WAAVP. La méthode de Abott permet de mettre en évidence une diminution de l'efficacité sur le genre *Ostertagia*.

Cette perte d'efficacité, également observée pour la moxidectine en présence de loperamide, reste à confirmer. Elle montre la nécessité de réitérer ces tests, pour mieux comprendre les interactions entre lactones macrocycliques et loperamide.

5.4.6. Conseils de traitements donnés par l'INTA pour l'année 2006-2007

Le cas de l'exploitation de Nueva Castilla rejoint celui de nombreux élevages de moutons dans lesquels aucun traitement n'est plus efficace contre tous les genres de nématodes. Des traitements combinant plusieurs molécules anthelminthiques sont le seul moyen de limiter les infestations. Cette année les conseils donnés par l'INTA pour la gestion du problème des nématodes à Nueva Castilla ont été les suivants :

- pas de traitement avant le sevrage (antérieurement, les veaux sous la mère étaient traités à la doramectine pour lutter contre les myiases à *Cochliomyia hominivorax*)
- au sevrage : un traitement associant le lévamisole (pour lutter contre les nématodes du genre *Cooperia*) et l'ivermectine (pour lutter contre le genre *Ostertagia* et les gales psoroptiques)
- après le sevrage, pendant que les animaux sont sur des pâtures pérennes : effectuer régulièrement des comptages d'œufs sur les animaux et ne traiter que si la moyenne des opg dépasse 50. La limite de 50 opg a été choisie en fonction de la densité d'animaux sur les pâtures pour limiter leur contamination.
- en Mai, à l'entrée sur les pâtures annuels : si les animaux n'ont pas été traités une seconde fois, ne traiter qu'après deux semaines sur les nouvelles pâtures pour permettre la constitution de refuges de vers à partir des fèces déposées pendant deux semaines

Plusieurs mesures visent à réduire la pression de sélection appliquée aux populations de nématodes. Ces mesures vont permettre de retarder le développement de la résistance des genres de nématodes encore sensibles. Il s'agit de :

- l'arrêt des traitements avant le sevrage,
- l'application raisonnée des traitements en fonction de l'excrétion fécale : les traitements seront alors adaptés à l'infestation ce qui contribuera à augmenter leur efficacité et à réduire leur fréquence,
- la constitution de refuges de nématodes non soumis au traitement. Ces refuges vont permettre la conservation des gènes de sensibilité, ce qui va retarder le développement de la résistance.

En revanche l'application de traitements associant deux molécules est une mesure discutable. L'utilisation de deux molécules est nécessaire pour parvenir à éliminer tous les genres de nématodes à cause de la résistance. Cependant, il est possible que l'association de plusieurs anthelminthiques dans le même traitement accélère le développement de la résistance multiple aux molécules utilisées. Certains modèles mathématiques cependant démontrent que la résistance se développe moins vite face aux anthelminthiques lorsqu'ils sont associés dans le même traitement que lorsqu'ils sont appliqués de façon alternée (Barnes *et al.*, 1995). Le suivi de l'évolution de la résistance réalisé par l'INTA dans l'élevage de Nueva Castilla permettra d'évaluer l'impact de cette pratique dans les années à venir.

Conclusion

En Argentine, l'élevage représente une part importante de l'économie. La production de viande, activité principale, se déroule dans des exploitations d'engraissement, concentrées dans la région de la Pampa. L'infestation des animaux par les nématodes gastro-intestinaux est un des problèmes majeurs de ce type d'élevage. En effet, ces parasites provoquent des pertes de productions importantes chez les jeunes animaux en croissance. La lutte contre les nématodes repose essentiellement sur l'utilisation d'anthelminthiques : les lactones macrocycliques, les benzimidazolés et le lévamisole étant les molécules les plus utilisées.

En 2000, l'existence de nématodes résistants aux traitements anthelminthiques chez les bovins, a été rapportée pour la première fois en Argentine. Depuis, la recherche portée sur ce type de résistance, a montré qu'il s'agissait d'un phénomène très répandu dans les exploitations bovines argentines. La capacité de survie des nématodes rend les traitements médicamenteux de moins en moins efficaces.

Pour faire face à la résistance, deux possibilités existent : mettre au point de nouveaux anthelminthiques ou augmenter l'efficacité des molécules actuelles.

Le développement de nouveaux anthelminthiques semble peu probable en raison de la faible rentabilité du marché du médicament pour les animaux de rente. La seule alternative, reste l'augmentation de l'efficacité des anthelminthiques actuels. Le loperamide est un opioïde utilisé dans le traitement des diarrhées. Il a la capacité d'augmenter la biodisponibilité de l'ivermectine et de la moxidectine, deux lactones macrocycliques largement utilisées en Argentine.

Nous avons testé, chez les bovins, si cette meilleure biodisponibilité s'accompagnait d'une meilleure efficacité sur des souches de nématodes résistants. Notre étude s'est déroulée dans une exploitation de la Pampa subhumide caractérisée par la résistance des nématodes à l'ivermectine, aux benzimidazolés et au lévamisole.

L'efficacité a été mesurée par le test de réduction d'excrétion fécale d'œufs de nématodes. Cette étude a montré que le loperamide induisait une augmentation d'efficacité de l'ivermectine et de la moxidectine. Cependant, cette augmentation était insuffisante pour parvenir à une réversion de la résistance.

L'élevage bovin argentin est menacé par le développement de la résistance : pour parvenir à éliminer efficacement les nématodes, les éleveurs ont recours à des associations de traitement qui risquent d'accélérer le développement de la résistance multiple. La situation est

en passe de devenir comparable à celle de l'élevage ovin, où la perte totale d'efficacité des anthelminthiques a contraint certaines exploitations à cesser leur activité.

Les effets néfastes de la résistance s'étendent au-delà de la viabilité des élevages : pour faire face à l'inefficacité des traitements, les éleveurs augmentent la fréquence d'utilisation des anthelminthiques. Les résidus d'anthelminthiques dans la viande et dans les fèces ont des effets néfastes pour l'environnement et représenteront peut être un problème de santé publique.

Bibliographie

ALI D.N., HENNESSY D.R.

The effect of level of feed intake on the pharmacokinetic disposition and efficacy of ivermectin in sheep.

Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1996, **19**, 89-94

ALI D.N., HENNESSY D.R.

The effect of reduced feed intake on the efficacy of oxfendazole against benzimidazole resistant *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep.

International Journal of Parasitology, 1995, **25**, 71-74

ALVINERIE M., DUPUY J., EECKOUTTE C., SUTRA J.F.

Enhanced absorption of pour-on ivermectin formulations in rats by co-administration of the multi-drug resistant-reversing agent verapamil.

Parasitology Research, 1999, **85**, 920-922

ALVINERIE M., GALTIER P., PINEAU T.

Involvement of Mdr P-glycoprotein in the fate of endectocides in mice and rats.

Proceedings of the 17th International Conference of the World association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Poster G.7.01. Copenhagen, Denmark

ANZIANI O., FIEL C.A.

Resistencia de los nematodos gastrointestinales a los anthelmínticos : un problema emergente y relevante para la producción bovina nacional.

Resistencia en los parasitos internos en Argentina FAO, 2005, 7-34

ANZIANI O., SUAREZ V., GUGLIEMONE A.A., WARNKE O., GRANDE H., COLES G.C.

Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactones anthelmintics in cattle in Argentina.

Veterinary Parasitology, 2004, **122**, 303-306

BAGETTO L.G.

Biochemical, genetic, and metabolic adaptations of tumor cells that express the typical multidrug-resistance phenotype. Reversion by new therapies.

Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 1997, **29**, 401-413

BARNES E.H., DOBSON R.J., BARGER I.A.

Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model.

Parasitology Today, 1995, **11**, 56-63

BARRETT J.

Helminth detoxification mechanism.

Journal of Helminthology, 1997, **71**, 85-89

BENCHAOUI H.A., McKELLAR Q.A.

Interaction between fenbendazole and piperonyl butoxide : pharmacokinetic and pharmacodynamic implications.

Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1996, **48**, 753-759

BESIER B.

New anthelmintic in livestock: the time is right.

Trends in Parasitology, 2007, **23**, 21-24

BEUGNET F., GAUTHEY M., KERBOEUF D.

Partial in vitro reversal of benzimidazole resistance by the free-living stages of *Haemonchus contortus* with verapamil.

Veterinary Record, 1997, **141**, 575-576

BLACKHALL W.J., LIU H.Y., XU M., PRICHARD R.K., BEECH R.N.

Selection at a P-glycoprotein gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains of *Haemonchus contortus*.

Biochemical parasitology, 1998a, **95**, 193-201

BLACKHALL W.J., POULIOT J.-F., PRICHARD R.K., BEECH R.N.

Haemonchus contortus: selection at glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains.

Experimental Parasitology, 1998b, **90**, 42-48

BOGAN J., McKELLAR Q.

The pharmacodynamics of ivermectin in sheep and cattle.

Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1988, **17**, 260-268

BORGER M., DE NOLLIN S., DE BRANDANDER M., THIENPONT D.

Influence of the anthelmintic mebendazole on microtubules and intracellular organelle movement in nematode intestinal cells.

American Journal of Veterinary Research, 1975, **36**, 1153-1166

BORST P., SCHINKEL A.H., SMIT J.J., WAGENAAR E., VAN DEEMTER L., SMITH A.J., EIJDENS E.W., BASS F., ZAMAN G.J.

Classical and novel form of multidrug resistance and the physiological functions of P-glycoprotein in mammals.

Pharmacology and Therapeutics, 1993, **60**, 289-299

BROEKS A., GERRARD B., ALLIKMETS R., DEAN M., PLASTERK R.H.

Homologues of the human multidrug resistance gene MRP and MDR contribute to heavy metal resistance in the soil nematode *Caenorhabditis elegans*.

EMBO J., 1996, **15**, 6132-6143

BROEKS A., JANSSEN H.W., CALAFAT J., PLASTERK R.H.

A P-glycoprotein protects *Caenorhabditis elegans* against natural toxins.

EMBO J., 1995, **14**, 1858-1866

BULL K., COOK A., HOPPER N.A., HARDER A., HOLDEN-DYE L., WALKER R.J.

Effects of the novel anthelmintic emodepside on the locomotion, egg-laying behaviour and development of *Caenorhabditis elegans*.

International Journal for Parasitology, 2007, **37**, 627-636

CARACOSTANGOLO J., CASTANO R., CUTULLE C., CETRA B., LAMBERTI R., OLAECHA F., RUIZ M., SCHAPIRO J., MARTINEZ M., BALBIANI G., CASTRO M.
Evaluación de la resistencia a los antihelmínticos en Argentina.
Resistencia en los parasitos internos en Argentina FAO, 2005, 7-34

CHIU S., GREEN M., BAYLIS F., ELINE D., ROSEGAY A., MERIWETHER H., JACOB T.
Absorption, tissue distribution and excretion of tritium-labelled ivermectin in cattle, sheep and rat.
Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1990, **38**, 2072-2078

COLES G.C., BAUER C., BORGSTEEDE F.H.M., GEERTS S., KLEI T.T., 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.
Veterinary Parasitology, 1992, **44**, 35-44

COLES G.C., JACKSON F., POMROY W.E., PRICHARD R.K., VON SAMSON-HIMMELSTERJNA G., SILVESTRE A., TAYLOR M.A., VERCRUYSSSE J.
The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance.
Veterinary Parasitology, 2006, **136**, 167-185

CROWE A., WONG P.
Potential roles of P-gP and calcium channels in loperamide and diphenoxylate transport.
Toxicology and Applied Pharmacology, 2003, **193**, 127-137

CULLY D.F., WILINSON H., VASSILITIS D.K., ETTER A., ARENA J.P.
Molecular biology and electrophysiology of glutamate-gated chloride channels of invertebrates.
Parasitology, 1996, **113**, 191-200

DENT J.A., DAVIS M.W., AVERY L.
avr-15 encodes a chloride channel subunit that mediates inhibitory glutamatergic neurotransmission and ivermectin sensitivity in *Caenorhabditis elegans*.
EMBO J., 1997, **16**, 5867-5879

DUPUY J., LARRIEU G., SUTRA J.F., EECKHOUTTE C., ALVINERIE M.
Influence of verapamil on the efflux and metabolism of ¹⁴C moxidectin in cultured rat hepatocytes.
Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2001, **24**, 171-177

DUPUY J., LARRIEU G., SUTRA J.F., LESPINE A., ALVINERIE M.
Enhancement of moxidectin bioavailability in lamb by a natural flavonoid: quercetin.
Veterinary Parasitology, 2003, **25**, 337-347

EDDI C., CARACOSTONGOLO J., PE M., SCHAPIRO J., MARANGUNICH L., WALLER P.J., HANSEN J.W.
The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Argentina.
Veterinary Parasitology, 1996, **62**, 189-197

ELARD L., HUMBERT J.F.

Importance of the mutation of amino acid 200 of the isotype I beta-tubulin gene in the benzimidazole resistance of the small ruminants parasites *Teladorsagia circumcincta*.

Parasitology Research, 1999, **85**, 452-456

ETTER A., CULLY D.F., LIU K.K., REISS B., VASSILITIS D.K., SCHAEFFER J.M., ARENA J.P.

Picrotoxin blockade of invertebrate glutamate-gated chloride channels: subunit dependence and evidence for binding within the pore.

Journal of Neurochemistry, 1999, **72**, 318-326

FARIAS M.T., BORDIN E.L., FORBES A.B., NEWCOMB K.

A survey on resistance to anthelmintics in sheep stud farms of southern Brazil.

Veterinary Parasitology, 1997, **72**, 209-214

FELLER N., KUIPER C.M., LANKELMA J., *et al.*

Functional detection of MDR1/P170 and MRP/P190-mediated multidrug resistance in tumour cells by flow cytometry.

British Journal of Cancer, 1995, **72**, 543-549

FIEL C.A., SAUMELL C.A., FUSE L.A., SEGUI R., FREIJE E., STEFFAN P.E., IGLESIAS L.E.

Resistencia antihelmíntica en bovinos. Dos escenarios diferentes como resultado del sistema de manejo y la excesiva frecuencia de tratamiento antiparasitarios.

Resistencia en los parasitos internos en Argentina FAO, 2005, 53-61

FIORAMONTI J., BUENO L.

Effects of loperamide hydrochloride on experimental diarrhea and gastro-intestinal myoelectrical activity in calves.

American Journal of Veterinary Research, 1987, **48**, 415-419

FLEMMING J.T., SQUIRE M.D., BARNES T.M., TORNOE T.M., MATSUDA K., AHNN J., FIRE ASULSTON J.E., BARNARD E.A., SATELLE D.B., LEWIS J.A.

Caenorhabditis elegans levamisole resistant gene lev-1, unc-29 and, unc-38 encode functional nicotinic acetylcholine receptor subunits.

Journal of Neurochemistry, 1997, **17**, 5843-5857

GEARY T.G., SANGSTER N.C., THOMPSON D.P.

Frontiers in anthelmintic pharmacology.

Veterinary Parasitology, 1999, **84**, 275-295

GOTTESMAN M.M.

Mechanism of cancer drug resistance.

Annual Review of Medicine, 2002, **53**, 615-627

GOTTESMAN M.M., FOJO T., BATES S.E.

Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependant transporters.

Nature Reviews Cancer, 2002, **2**, 48-58

HARDER A., SCHMITT-WERDE H.-P., KRUCKEN J., MARINOVSKI P., WUNDERLICH F., WILSON J., AMLIWALA K., HOLDEN-DYE L., WALKER R.
Cyclooctadepsipeptides: an anthelmintically active class of compounds exhibiting a novel mode of action.

International Journal of Parasitology, 2003, **22**, 318-331

HENNESSY D.R., PAGE S.W., GOTTSCHALL D.

The behaviour of doramectin in the gastro-intestinal tract, its secretion in bile and pharmacokinetic disposition in the peripheral circulation after oral and intravenous administration.

Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2000, **23**, 203–213

HENNESSY D.R., STEEL J.W., PRICHARD R.K.

Biliary secretion and enterohepatic recycling of fenbendazole metabolites in sheep.

Journal for Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1993, **16**, 132-140

HOSTE H., PAOLINI V., PARAUD C., CHARTIER C

Gestion non chimique du parasitisme par les nématodes chez les petits ruminants.

Bulletin des GTV, Hors série parasitologie des ruminants laitiers 343/347, 2004, 131-135

HUANG Y.G., PRICHARD R.K.

Identification and stage-specific expression of two putative P-glycoprotein coding genes in *Onchocerca volvulus*.

Molecular and Biochemical Parasitology, 1999, **102**, 273-281

JACQUIET P.

La résistance aux anthelminthiques : situation actuelle, dépistage et stratégies de lutte.

Bulletin de la Société des Vétérinaires Praticiens de France, 1999, **83**, 357-383

JASMER D.P., YAO C., REHMAN A., JOHNSON N.

Multiple lethal effects induced by a benzimidazole anthelmintic in the anterior intestine of the nematode *Haemonchus contortus*.

Molecular and Biochemical Parasitology, 2000, **105**, 81-90

JIA K., ALBERT P.S., RIDDLE D.L.

DAF-9, a cytochrome P-450 regulating *C. elegans* larval development and adult longevity.

Development, 2002, **129**, 221-231

KAWALEK J.C., REW R.S., HEAVNER J.

Glutathione-S-transferase, a possible drug-metabolizing enzyme, in *Haemonchus contortus*: comparative activity of a cambendazole-resistant and a susceptible strain.

International Journal for Parasitology, 1984, **14**, 173-175

KERBOEUF D., BLACKHALL W., KAMINSKY R., VON SAMSON-HIMMELSTERJNA G.

P-glycoprotein in helminths: function and perspective for anthelmintic treatment and reversal of resistance.

International Journal of Antimicrobial Agents, 2003a, **22**, 332-346

- KERBOEUF D., CHAMBRIER P., LE VERN Y., AYCARDI J.
Flow cytometry analysis of drug transport mechanism in *Haemonchus contortus* susceptible or resistant strains.
Parasitology Research, 1999, **85**, 118-123
- KERBOEUF D., GUEGNARD F., LE VERN Y.
Analysis and partial reversal of multidrug resistance to anthelmintics due to P-glycoprotein in *Haemonchus contortus* eggs using *Lens culinaris* lectin.
Parasitology Research, 2002, **88**, 816-821
- KERBOEUF D., GUEGNARD F., LE VERN Y.
Detection of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance against anthelmintic in *Haemonchus contortus* using anti-human mdr1 monoclonal antibodies.
Parasitology Research, 2003b, **91**, 79-85
- KOTZE A.C.
Effects of macrocyclic lactones on ingestion in susceptible and resistant strains of *Haemonchus contortus* larvae.
Journal of Parasitology, 1998, **84**, 631-635
- KWA M.S.G., OKOLI M.N., SCHULZ-KEY P.O., OKONGKWO M., ROOSH.
Research note: use of P-glycoprotein gene probes to investigate anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus* and comparison with *Onchocerca volvulus*.
International Journal for Parasitology, 1998, **28**, 1235-1240
- KWA M.S.G., VEENSTRA J.G., ROOS M.H.
Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in beta-tubulin isotype I.
Molecular and Biochemical Parasitology, 1994, **63**, 299-303
- LACEY E.
The role of the cytoskeletal protein tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazole.
International Journal for Parasitology, 1988, **18**, 885-936
- LAFFONT C.M., TOUTAIN P.L., ALVINERIE M., BOUSQUET-MELOU A.
Intestinal secretion is a major route for parent ivermectin elimination in the rat.
Drug Metabolism Disposal, 2002, **30**, 626-630
- LANKFORD S.M., BAI S.A.
Determination of the stereochemical composition of the major metabolites of verapamil in dog urine with enantioselective liquid chromatographic techniques.
Journal of Chromatography, 1995, **B 663**, 91-101
- LANUSSE C.E., GASCON L.H., PRICHARD R.K.
Influence of the antithyroid compound methimazole on the plasma disposition of fenbendazole and oxfendazole in sheep
Research in Veterinary Science, 1995, **58**, 222-226

LANUSSE C.E., LIFSCHITZ A.L., VIRKEL G.L., SANCHEZ S., SUTRA J.F., GALTIER P., ALVINERIE M.

Comparative plasma disposition kinetic of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle.
Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1997, **20**, 91-99

LANUSSE C.E., PRICHARD R.K.

Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics.

Veterinary Parasitology, 1993, **49**, 123-158

LE JAMBRE L.F., LENANE I.J., WARDROP A.J.

A hybridisation technique to identify anthelmintic resistance genes in *Haemonchus*.

International Journal for Parasitology, 1999, **29**, 1979-1985

LIFSCHITZ A.L., VIRKEL G.L., IMPERIALE F., SUTRA J.F., GALTIER P., LANUSSE C., ALVINERIE M.

Moxidectin in cattle: correlation between plasma and target tissue disposition.

Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy, 1999a, **22**, 266-273

LIFSCHITZ A.L., VIRKEL G.L., PIS A., IMPERIALE F., SANCHEZ S., ALVAREZ L., KUJANEK R., LANUSSE C.

Ivermectin disposition kinetics after subcutaneous and intra-muscular administration of an oil-based formulation to cattle.

Veterinary Parasitology, 1999b, **86**, 203-215

LIFSCHITZ A.L., VIRKEL G.L., SALLOVITZ J. M., PIS A., IMPERIALE F.A., LANUSSE C.E.

Loperamide-induced enhancement of moxidectin availability in cattle

Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2002, **25**, 111-120

LIFSCHITZ A.L., VIRKEL G.L., SALLOVITZ J. M., PIS A., IMPERIALE F.A., LANUSSE C.E.

Loperamide modifies the tissue disposition kinetics of ivermectin in rats

Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2003, **55**, 1-7

LIFSCHITZ A.L., VIRKEL G.L., SALLOVITZ J.M., SUTRA J.F., GALTIER P., ALVINERIE M., LANUSSE C.E.

Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle.

Veterinary Parasitology, 2000, **87**, 327-338

LINCKE C.R., BROEKS A., THE I., VAN GROENIGEN M., BORST P.

The expression of two P-glycoprotein (pgp) genes in transgenic *Caenorhabditis elegans* is confined to intestinal cells.

EMBO J., 1993, **12**, 1615-1620

LINCKE C.R., THE I., VAN GROENIGEN M., BORST P.

The P-glycoprotein gene family of *Caenorhabditis elegans*. Cloning and characterization of genomic and complementary DNA sequences.

Journal of Molecular Biology, 1992, **228**, 701-711

- MACIEL S., GIMENEZ A.M., GAONA C., WALLER P.J., HASEN J.W.
The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Paraguay.
Veterinary Parasitology, 1996, **62**, 207-212
- MARTIN R.J.
An electrophysiological preparation of pharyngeal muscle reveals a glutamate gated-chloride channel sensitive to the avermectin analogue, milbemycin D.
Parasitology, 1996, **112**, 247-252
- MARTIN R.J.
Modes of action of Anthelmintic Drugs
The Veterinary Journal, 1997, **154**, 11-34
- MARTIN R.J., MURRAY I., ROBERTSON A.P., BJORN H., SANGSTER N.
Anthelmintic and ion-channels: after a puncture, use a patch.
International Journal for Parasitology, 1998, **28**, 849-862
- MEHLHORN H., DUWEL D., RAETHER W.
Manual de Parasitología Veterinaria. Edition espagnole
Bogota Colombie: GRASS-IATROS 1993, 436 p.
- MEJIA M.E., FERNANDEZ IGARTUA B.M., SCMIDT E.E., CABARET J.
Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance?
Veterinary Research, 2003, **34**, 461-467
- MOLENTO M.B., LIFSCHITZ A., SALLOVITCH J., LANUSSE C., PRICHARD R.
Influence of verapamil on the pharmacokinetics of the antiparasitic drugs ivermectin and moxidectin in sheep.
Parasitology Research, 2004, **92**, 121-127
- MOLENTO M.B., PRICHARD R.K.
Effects of the multi-drug-resistance-reversing agents verapamil and CL 347,099 on the efficacy of ivermectin or moxidectin against unselected and drug-selected strains of *Haemonchus contortus* in jirds (*Meriones unguiculatus*)
Parasitology Research, 1999, **85**, 1007-1011
- NAITO S., KOIKE K., ONO M.
Development of novel reversal agents, imidazothizole derivatives, targeting.
Oncological Research, 1998, **10**, 123-132
- NARI A., SALLES J., GIB A., WALLER P.J., HANSEN J.W.
The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Uruguay.
Veterinary Parasitology, 1996, **62**, 213-222

NIEC A.

Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino.

Boletín Técnico, INTA, 1968, Argentina, N° 56, 18 p.

NJUE A.I., HAYASHI J., KINNE L., FENG X.P., PRICHARD R.K.

Mutations in the extracellular domains of glutamate-gated chloride channel alpha 3 and beta subunits from ivermectin-resistant *Cooperia oncophora* affect agonist sensitivity.

Journal of Neurochemistry, 2004, **89**, 1137-1147

PRICHARD R.K.

Anthelmintics for cattle.

Veterinary Clinics of North America : Food Animal practices, 1986, **2**, 489-501

RIOU M., KOCH C., DELALEU B., BERTHON P., KERBOEUF D.

Immunolocalisation of an ABC transporter, P-glycoprotein, in the eggshells and cuticles of free-living and parasitic stages of *Haemonchus contortus*.

Parasitology Research, 2005, **96**, 142-148

ROOS M.H., KWA M.S.G., GRANT W.N.

New genetic and practical implications of selection for anthelmintic resistance in parasitic nematodes.

Parasitology Today, 1995, **11**, 148-150

SANGSTER N.C., BANNAN N.C., WEISS A.S., NULF S.C., KLEIN R.D., GERAY T.G.

Haemonchus contortus: sequence heterogeneity of internucleotide binding domains for P-glycoprotein and association with avermectin/milbemycin resistance.

Experimental Parasitology, 1999, **91**, 250-257

SANGSTER N.C., GILL J.

Pharmacology of anthelmintic resistance.

Parasitology Today, 1999, **15**, 141-146

SANGSTER N.C., RILEY F.L., WILEY L.J.

Binding of [3H]m-aminolevamisole to receptors in levamisole-susceptible and -resistant *Haemonchus contortus*.

International Journal for Parasitology, 1998, **28**, 707-717

SCHILLER L.R., SANTA ANA C.A., MORAWSKI S.G.,

Mechanism of the antidiarrheal effect of loperamide.

Gastroenterology, 1984, **86**, 1475-1480

SCHINCKEL A., WAGENAAR E., MOL C., VAN DEEMTER L.

P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs.

Journal of Clinical Investigations, 1996, **97**, 2517-2524

SHOOP W.L., MROZIK H., FISHER M.H.

Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health.

Veterinary Parasitology, 1995, **59**, 139-156

SILVESTRE A., HUMBERT J.F.

Diversity of benzimidazole-resistance alleles in populations of small ruminant parasites.
International Journal for Parasitology, 2002, **32**, 921-928

SMITH J.M., PRICHARD R.K.

Localization of P-glycoprotein mRNA in the tissues of *Haemonchus contortus* of adult worms and its relative abundance in drug-selected and susceptible strains.
Journal of Parasitology, 2002, **88**, 612-620

SUAREZ V.H.

Variación estacional de las poblaciones de helmintos parásitos de bovinos en sistemas de invernada, en la región semiárida y subhúmeda pampeana.
Revista de Medicina Veterinaria, 1990, **71**, 6-18

SUAREZ V.H.

Los parásitos internos del bovino en la región semiárida pampeana. Como controlar los?
Boletín de divulgación técnica, 1994, **47**, 27 p.

SUAREZ V.H.

Diagnóstico de las parasitosis internas de los ruminantes en la región de invernada. Interpretación y técnicas.
Boletín de divulgación técnica, 1997, **56**, 28 p.

SUAREZ V.H.

Ecología de los estadios de vida libre de los nematodos bovinos durante la contaminación otoño-ivernal en la región semiárida pampeana.
Revista de Medicina Veterinaria, 2001, **82**, 316-323

SUAREZ V.H.

Helminthic control on grazing ruminants and environmental risk in South America.
Veterinary Residence, 2002, **33**, 563-573

SUAREZ V.H., BUSETTI M.R.

Epizootiología y efecto de los nematodos gastrointestinales en la recría de terneras en la región semiárida pampeana.
Revista argentina de Producción Animal, 1989, **9**, 149-158

SUAREZ V.H., BUSETTI M.R.

Parasitismo interno en terneras de reposición en el área del caldenal, La pampa.
Veterinaria Argentina, 1993, **10**, 86-94

SUAREZ V.H., BUSETTI M.R.

Efecto de una estrategia de control de la parasitosis internas en la productividad de la cría bovina (vaca-ternero)
Veterinaria Argentina, 1994, **11**, 88-96

SUAREZ V.H. CRISTEL S.L.

Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina
Veterinary Parasitology, 2007, **144**, 111-117

SUAREZ V.H., DE LA MATA A.

Nematodes gastrointestinales en terneros de tambo. Observaciones en la región semiárida Pampeana.

Veterinaria General, 1987, **9**, 41, 60-68

SUAREZ V.H., GONELLA C.A., FORT M.C.

Comunicación preliminar sobre parasitismo gastrointestinal en la invernada de «La Belita» (Gral. Villegas)

Revista de Medicina Veterinaria, 1989, **70**, 42-46

SUAREZ V.H., MIRANDA A.O., ARENAS S.M., SCHMIDT E.E., LAMBERT J., SCHIEDA A., FELICE G., IMAS D., SOLA E., PEPA H., BUGNONE V., CALANDRI H., LORDI L.V.

Incidencia y control de los nematodos gastrointestinales bovinos en el Este de la Provincia de la Pampa, Argentina.

En rédaction.

TSURUO T., LIDA T., TSUKAGOSHI S., SAKURAI S.

Demonstration that verapamil could reverse MDR indicated the possibility of clinically useful reversing agents for MDR.

Cancer Research, 1981, **41**, 1967-1972

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

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

Veterinary Parasitology, 2004, **119**, 277-306

VASSILITIS D., ARENA J., PLASTERK R., WILKINSON H., SCHAEFFER J., CULLY D., VAN DER PLOEG L.

Genetic and biochemical evidence for a novel avermectin-sensitive chloride channel in *Caenorhabditis elegans*. Isolation and characterization.

Journal of Biological Chemistry, 1997, **272**, 33167-33174

VON SASON-HIMMELSTERJNA G., BLACKHALL W.

Will technology provide solutions for drug resistance in veterinary helminths?

Veterinary Parasitology, 2005, **132**, 223-239

VON SAMSON-HIMMELSTERJNA G., HARDER A., SCHNIEDER T., *et al.*

In vivo activities of the new anthelmintic depsipeptide PF1022A.

Parasitology Research, 2000, **86**, 194-199

WALLER P.J., ECHEVARRIA F., EDDI C., MACIEL S., NARI A., HANSEN J.W.

The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: general overview.

Veterinary Parasitology, 1996, **62**, 181-187

WANDEL C., KIM R., WOOD M., WOOD A.

Interaction of morphine, fentanyl, sufentanil, alfentanil, and loperamide with the efflux drug transporter P-glycoprotein.

Anesthesiology, 2002, **96**, 913-920

WATERSON R., MARTIN C., CRAXTN M., HUYNH C., COULSON A., HILLIER L., DURBIN R., GREEN P., SHOWNKEEN R., HALLORAN M., *et al.*

A survey of expressed genes in *Caenorhabditis elegans*.

Nature Genetics, 1992, **1**, 114-123

WOLSTENHOLME A.J., FAIRWEATHER J., PRICHARD R.K., VON SAMSON-HIMMELSTERJNA G., SANGSTER N.C.

Drug resistance in veterinary helminths.

Trends in Parasitology, 2004, **20**, 469-476

XU M., MOLENTO M., BLACKHALL W., RIBEIRO P., BEECH R., PRICHARD R.K.

Ivermectin resistance in nematodes may be caused by alteration of P-glycoprotein homolog.

Molecular and Biochemical Parasitology, 1998, **91**, 327-335

ZIMNIAK P., PIKULA S., BANDOROWICZ-PIKULA J., AWASTHI Y.C.

Mechanisms for xenobiotic transport in biological membranes.

Toxicology Letters, 1999, **106**, 107-118

ZULALIAN J., STOUT S.J., DA CUNHA A.R., GARCES T., MILLER P.

Absorption, tissue distribution, metabolism and excretion of moxidectn in cattle.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, **42**, 381-387

Sites Internet

CENTRE D'INFORMATION DES VIANDES (Page consultée le 1^{er} Mars 2007). Site du centre d'information des viandes. Adresse URL : <http://www.civ-viande.org/ebn.ebn?pid=125>

INSTITUT DE L'ELEVAGE (Page consultée le 28 Avril 2007). Site de l'Institut Français de l'Élevage. Dossier Economie de l'élevage n°355, Mai 2004 : Le bœuf argentin revient de loin. Adresse URL : http://www.inst-elevage.asso.fr/html1/article.php3?id_article=4350

INSTITUTO PRIMO CAPRARO. (Page consultée le 22 Avril 2006). Site de l'école allemande de Bariloche (Argentine). Adresse URL : <http://www.capraro.com.ar/images/MaterialDidactico/Mapas/>

MINISTERE ARGENTIN DE L'ECONOMIE. (Page consultée le 22 Avril 2006). Site du ministère argentin de l'économie. Adresse URL : <http://www.sagpya.mecon.gov.ar/>

Toulouse, 2007

NOM : AHOUSSOU

Prénom : SYLVIE

TITRE : EFFET DU LOPERAMIDE SUR L'EFFICACITE DE L'IVERMECTINE ET DE LA MOXIDECTINE DANS LE TRAITEMENT DES STRONGYLOSES GASTRO-INTESTINALES CHEZ LES BOVINS EN ARGENTINE

RESUME : En Argentine, un des problèmes majeurs de l'élevage bovin est le parasitisme par les nématodes gastro-intestinaux. Aujourd'hui, l'efficacité de la lutte contre ce parasitisme est menacée par le développement de la résistance des nématodes aux anthelminthiques.

Le loperamide est un opioïde qui permet d'augmenter la biodisponibilité, chez les bovins, de l'ivermectine et de la moxidectine, deux anthelminthiques fréquemment utilisés en Argentine. Nous avons testé, *in vivo*, si cette augmentation de biodisponibilité s'accompagnait d'une augmentation d'efficacité sur des nématodes résistants.

Notre étude s'est déroulée dans une exploitation bovine de la Pampa subhumide en Argentine. L'efficacité des traitements a été mesurée en utilisant le test de réduction d'excrétion fécale d'œufs. A l'issue de cette étude, nous avons montré que le loperamide permettait d'accroître l'efficacité de la moxidectine et de l'ivermectine mais de façon insuffisante pour parvenir à une réversion de la résistance.

MOTS-CLES : nématodes, bovins, anthelminthique, résistance, Argentine, loperamide, ivermectine, moxidectine

ENGLISH TITLE : LOPERAMIDE EFFECT ON IVERMECTIN AND MOXIDECTIN EFFICACY IN THE TREATMENT OF CATTLE WITH GASTROINTESTINAL STRONGYLOSIS IN ARGENTINA

ABSTRACT : Gastrointestinal parasites are one of the major problems affecting cattle production in Argentina. The control of these parasites is dependent mainly on the use of anthelmintics. However, the emergence of nematodes resistant to various anthelmintics poses a serious constraint to many parasite control programs. Ivermectin and moxidectin are two anthelmintics widely used in Argentina. Loperamide, an opioid agent, is known to increase their bioavailability in cattle. We have realized an *in vivo* study in cattle to demonstrate the effect of loperamide on the efficacy of ivermectin and moxidectin.

The study was performed at a subhumid Pampa cattle farm (Argentina) where the presence of nematodes resistant to ivermectin and moxidectin has already been reported. The results of our study reveal that loperamide was able to increase the efficacy of these drugs, but not efficient enough to reverse resistance.

KEYWORDS : nematode, cattle, anthelminthic, resistance, Argentina, loperamide, ivermectin, moxidectin