

Les laboratoires Eurofins vous accompagne dans la mise en évidence de la Chimiorésistance des parasites digestifs équins

Le Test de Réduction de l'excrétion Fécale des œufs (TREFO)

Un constat alarmant ...

3 familles d'antiparasitaires sont disponibles dans l'espèce équine :
Les **benzimidazoles**, le **pyrantel** et les **lactones macrocycliques**.



L'usage répandu de protocoles de traitement fondés sur une administration régulière et fréquente d'anthelminthiques à tous les chevaux a exercé une forte pression de sélection sur les populations parasites, entraînant l'émergence, puis l'extension de la résistance aux anthelminthiques chez les **cyathostomes** (petits strongles du cheval) et chez **Parascaris equorum**, 2 familles de parasites actuellement considérées comme les plus importantes chez les chevaux.

Pour ces familles, la **résistance aux benzimidazoles** et, à moindre degré, **au pyrantel**, connaît maintenant une répartition mondiale. En France, sur 30 élevages testés, la résistance au pyrantel a été suspectée dans 6 (20%) et confirmée dans 3 (Traversa et al. 2012).



oeuf de *Parascaris equorum*

La résistance aux **Lactones macrocycliques** (comme l'ivermectine) a fait son apparition dans divers pays d'Europe comme la Suède, le Danemark, l'Italie et l'Allemagne (Peregrine et al. 2014). En France, la présence de populations de ***P. equorum*** résistantes à l'ivermectine a été montrée en Normandie (Laugier et al. 2012).

En parallèle, une diminution d'efficacité des lactones sur **les cyathostomes** est suspectée sur la base d'un raccourcissement du délai de réapparition des œufs après traitement.

Enfin Une résistance d'***Oxyuris equi*** à l'ivermectine est aussi occasionnellement évoquée (Wolf et al. 2014).

Ces résistances représentent des motifs d'inquiétude pour plusieurs raisons :

- Ces phénomènes risquent d'entraîner un accroissement des charges parasites à l'origine de **conséquences cliniques graves** (Peregrine et al. 2014).
- Les nouvelles classes de principes actifs éventuellement disponibles à l'avenir, n'ont pas été testées chez les équidés. Aucune autorisation de mise sur le marché pour un nouvel anthelminthique destiné aux équidés n'est donc imminente. (Nielsen et al. 2014b).
- Une fois la résistance installée, **aucune réversibilité** ne se produit, même après suppression de la pression de sélection pendant une longue période (jusqu'à 40 ans) (Lyons et al. 2007).

Facteurs favorisant l'apparition des résistances :

- Outre l'emploi répété des antiparasitaires, d'autres **erreurs d'utilisation** sont en cause : **intervalles** de traitements trop courts (inférieurs à la ppp), **erreurs de dosage** : les sous-dosages modérés autorisant la survie des hétérozygotes portant des allèles de résistance co-dominants, ou récessifs.
- Attention aussi à l'utilisation de spécialités ne possédant **pas d'AMM équine**, qui conduit aussi souvent à de tels sous-dosages, ainsi qu'aux **procédés rémanents**, qui après avoir délivré des doses létales pour les parasites, finissent par se diffuser à des concentrations très inférieures.
- Contrairement à ce que les détenteurs croient souvent, la **rotation rapide de familles** d'anthelminthiques au cours de l'année encourage le développement de **résistances multiples** car une même génération de vers est soumise à des molécules ayant des modes d'action différents (Barnes et al. 1995).
- La pratique longtemps recommandée du changement de pâture après administration d'anthelminthiques (**treat and move**) si elle est pratiquée sur des effectifs de vers résistants, entraîne une contamination des pâtures saines exclusivement par ces vers résistants, seuls à avoir survécu au traitement (Jacquet, 1999; Van Wyk, 2001). C'est la notion de **disparition des populations refuge**.
- Les déplacements fréquents des chevaux de sport et des reproducteurs, à l'intérieur ou à l'extérieur des pays, favorisent la **dissémination** des populations parasitaires résistantes (Reinemeyer, 2009a).

Mise en évidence de la chimiorésistance des parasites équine avec votre laboratoire

Il peut être important de détecter la résistance aux anti-parasitaires dans des populations équine de manière précoce, afin d'avoir encore la possibilité de mettre en place des mesures adéquates. (Von Samson-Himmelstjerna, 2012)

Chez les chevaux, le **test de réduction d'excrétion décale des œufs (TREFO)** est la seule méthode adaptée à l'évaluation de l'efficacité d'un anthelminthique sur le terrain.

- **Réalisation du Test TREFO (selon les recommandations de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology)**

- ✓ Le TREFO doit être pratiqué sur un lot d'**au moins six équidés et idéalement de 10**, appartenant à la **même classe d'âge**.
- ✓ Pour une recherche de résistance aux anthelminthiques chez les **cyathostomes**, le test est pratiqué sur de jeunes animaux, de préférence **âgés de 18 mois à trois ans**. En effet, dans un effectif de chevaux adultes, les forts excréteurs ne représentent qu'environ 20% des individus, alors que les jeunes chevaux dont l'immunité contre les strongles n'est pas encore installée, présentent plus régulièrement des niveaux d'excrétion élevée et sont donc de meilleurs candidats pour la réalisation du test.
- ✓ Pour une recherche de résistance chez **Parascaris equorum**, le TREFO est effectué chez des poulains de **trois à six mois**.
- ✓ Le seuil d'excrétion recommandé pour chacun des animaux du lot testé est au minimum de **200 œufs par gramme** (opg) pour les cyathostomes et **100 opg** pour *P. equorum*.

En pratique, il est donc nécessaire de réaliser la première série d'examens coproscopiques chez un nombre élevé d'animaux de manière à pouvoir en sélectionner au moins six dont l'excrétion fécale est suffisante. Enfin, idéalement, il faudrait pouvoir disposer d'un groupe témoin constitué d'équidés du même âge.

- **Les prélèvements de fèces**

- ✓ Les prélèvements sont réalisés pendant la **saison de pâturage** (de préférence au printemps) au moment où l'infestation par des vers adultes et l'excrétion fécale sont maximales.
- ✓ Un délai après le dernier traitement anthelminthique doit être respecté : **9 semaines** pour le pyrantel ou le fenbendazole, **12** pour l'ivermectine et **16** pour la moxidectine.
- ✓ Les crottins sont prélevés dans le rectum, conditionnés individuellement, adressés au laboratoire sous réfrigération (4°C) et analysés dans un délai de 24 heures.

- **Les traitements anthelminthiques :**

Les spécialités testées doivent posséder une AMM pour les équidés. Un sous-dosage du principe actif pouvant conduire à un diagnostic erroné de résistance, il faut veiller non seulement à un **ajustement parfait de la dose au poids** de chaque animal mais également à une **ingestion complète** de la dose.

Le **premier prélèvement** de fèces est réalisé juste avant l'administration de l'anthelminthique et le second **10 à 14 jours après le traitement**.

- **Interprétation des résultats**

Le laboratoire calcule pour chaque lot :

- **Le taux de réduction d'excrétion fécale des œufs**, de manière distincte pour *Parascaris* et pour les Cyathostomes
- **L'intervalle de confiance à 95 %**



Figure 3 : Œuf de strongles (vu au microscope)

- **Choix des seuils**

- ✓ La World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) a défini **la résistance** comme relevant d'une diminution du comptage d'œufs de moins de 95% suite à deux prélèvements séparés d'un intervalle de dix jours et calculée en utilisant une moyenne arithmétique sur plusieurs animaux.
- ✓ Dans les populations de **cyathostomes**, les résultats des TREFO peuvent être interprétés comme suit (résistance aux benzimidazoles ou au pyrantel) (Traversa et al. 2009) :
 - **présence de résistance** si TREFO < 90% et la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% ou LCL 95% (lower 95% confidence limit) < 90% ;
 - **suspicion de résistance** si TREFO ≥ 90% et/ou LCL 95% < 90% ;
 - **absence de résistance** si TREFO ≥ 90% et LCL 95% > 90%.
- ✓ Dans les populations de **P.equorum**, les critères suivants peuvent être utilisés (résistance aux lactones macrocycliques) (Veronesi et al. 2010) :
 - **absence de résistance** si TREFO ≥ 90% et LCL 95% > 90% ;
 - **suspicion de résistance** si 80% ≤ TREFO < 90% et LCL 95% < 90% ;
 - **présence de résistance** si TREFO ≤ 80% et LCL 95% < 90%.

- **Limites**

Le TREFO comporte plusieurs limites :

- Il est impossible de distinguer en coproscopie les œufs de petits et de grands strongles. Néanmoins, l'approximation se justifie par le fait qu'une très grande majorité des œufs est due aux cyathostomes (petits strongles)
- La **détection est tardive** puisque les résistances sont identifiées lorsque qu'il y a plus de 25% d'allèles de résistance dans une population

Chez les chevaux, en raison du faible nombre de molécules disponibles et des perspectives très limitées de mise au point de nouveaux principes actifs, la lutte contre le développement et la diffusion des résistances est maintenant une urgence.

BIBLIOGRAPHIE

- . Barnes EH, Dobson RJ, Barger IA. Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model. Parasitol Today 1995; 11:56-62
- . Jacquet P. La résistance aux anthelminthiques : Situation actuelle, dépistage et stratégies de lutte. Bull Soc Vét Prat de France. 1999; 83:357-84.
- . Laugier C, Sévin C, Ménard S, Maillard K. Prevalence of Parascaris equorum infection in foals on French stud farms and first report of ivermectin-resistant P. equorum populations in France. Vet Parasitol. 2012; 188(12):185-9
- . Lyons ET, Tolliver SC, Collins SS. Study (1991-2001) of drug-resistant population B small strongyles in critical tests in horses in Kentucky at the termination of a 40-year investigation. Parasitol Res. 2007; 101:680701.
- . Nielsen MK, Reinemeyer CR, Donecker JM, Leathwick DM, Marchiondo AA, Kaplan RM. Anthelmintic resistance in equine parasites – Current evidence and knowledge gaps. Vet Parasitol. 2014b; 204:55-63.
- . Peregrine AS, Molento MB, Kaplan RM, Nielsen MK. Anthelmintic resistance in important parasites of horses: Does it really matter? Vet Parasitol. 2014; 201:1-8.
- . Reinemeyer CR. Diagnosis and control of anthelmintic-resistant Parascaris equorum. Parasit Vectors 2009a; 2(Suppl 2):S8.
- . Traversa D, von Samson-Himmelstjerna G, Demeler J, Milillo P, Schurmann S, Barne H et al. Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and Germany. Parasite Vector 2009; 2:S2.
- . Traversa D, Castagna G, von Samson-Himmelstjerna G, Meloni S, Bartolini R, Geurden T et al. Efficacy of major anthelmintics against horse cyathostomins in France. Vet Parasitol. 2012; 188:294-300.
- . Van Wyk JA. Refugia – overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. Onderstepoort J Vet Res. 2001; 68:55-67
- . Veronesi F, Fioretti DP, Genchi C. Are macrocyclic lactones useful drugs for the treatment of Parascaris equorum infections in foals? Vet Parasitol. 2010; 172(1-2):164-7.
- . Von Samson-Himmelstjerna G. Anthelmintic resistance in equine parasites – detection, potential clinical relevance and implications for control. Vet Parasitol. 2012; 185:2-8.
- . Wolf D, Hermosilla C, Taubert A. Oxyuris equi : lack of efficacy in treatment with macrocyclic lactones. Vet Parasitol. 2014; 201:163-68.