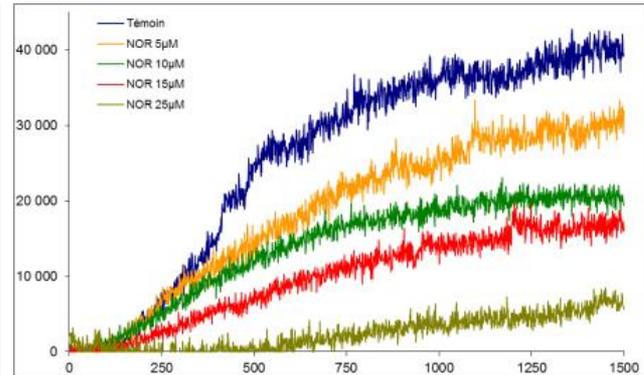


ALMA/MTA

un nouvel outil pour optimiser l'usage des anthelminthiques



INRAE

Centre val de Loire
UMR 1282
Infectiologie et Santé Publique (ISP)

 **INVENesis**

A. Vernudachi

F. Guegnard , D. Serreau, C. Neveu

la lutte contre les nématodes parasites dans un contexte de transition agroécologique

Les nématodes parasites gastro-intestinaux

Parasites adultes



Stades infestants



Pertes économiques liées :

1) baisses de productions (lait, viande, laine... mortalité des animaux); 2) Coût des traitements

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

Trois principales familles de molécules (santé humaine & animale)



Benzimidazoles



Agonistes
cholinergiques
(Levamisole
Pyrantel
Morantel..)



Lactones
macrocycliques
(Ivermectine...)

Les molécules les plus
utilisées dans les élevages

➔ Antiparasitaires à large spectre: Impact environnemental

Usage intensif
des anthelminthiques:
RESISTANCE !



Benzimidazoles

R



Lactones macrocycliques
Ivermectine

R ↑



Agonistes cholinergiques
Levamisole, pyrantel, Morantel

R

Isolats Multirésistants : impasses thérapeutiques...

L'utilisation raisonnée des antiparasitaires

Une réponse à la demande sociétale

Une nécessité absolue pour les éleveurs !!!!

Pour optimiser l'usage des anthelminthiques

et minimiser l'émergence des multirésistances: **besoin urgent de nouveaux outils de diagnostic**

Actuellement, le test « terrain » de référence: FECRT

Dénombrement des œufs de parasites avant et après traitement (coproscopies)



Confirmation du statut de résistance

Pour obtenir des informations sur les molécules encore efficaces

Multiplier le test : fastidieux...et couteux

Objectif: développer un test pour la détection rapide des résistances et l'identification des anthelminthiques encore efficaces sur des espèces de parasites en mélanges

outil d'aide à la décision :

optimiser et réduire l'usage des anthelminthiques pour une médecine vétérinaire de précision/minimiser l'impact environnemental des traitements

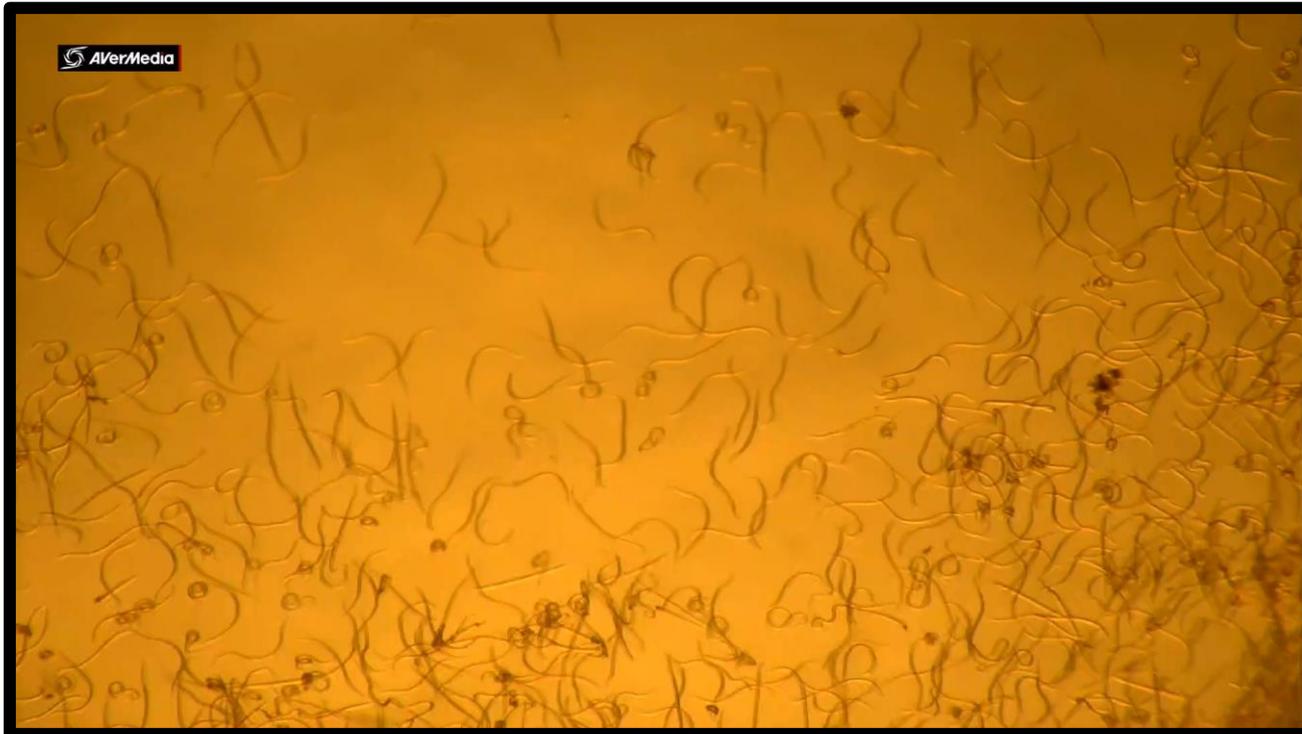
Cahier des charges

-  **Test adapté aux différents anthelminthiques disponibles sur le marché**
-  **Un test rapide réalisable sur les stades larvaires des parasites**
-  **Automatisé (mode opératoire standardisé)**
-  **Fiable, répétable, nécessitant peu de matériel biologique**
-  **Peu couteux**

Quel phénotype analyser ?

(A l'exception des BZs)

Tous les anthelminthiques disponibles sur le marché agissent sur le Système nerveux des nématodes: *paralysie « dose-dépendante »* (adultes ou stades larvaires)



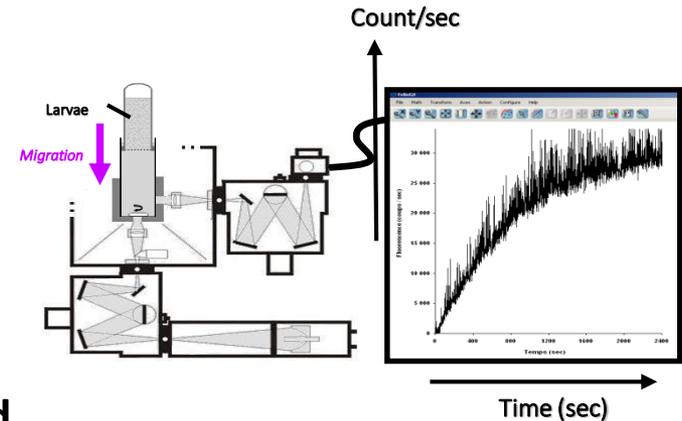
Objectif:

Quantification automatisée de la réduction de mobilité associée à l'activité de l'anthelminthique

ALMA: Automated Larval Migration Assay



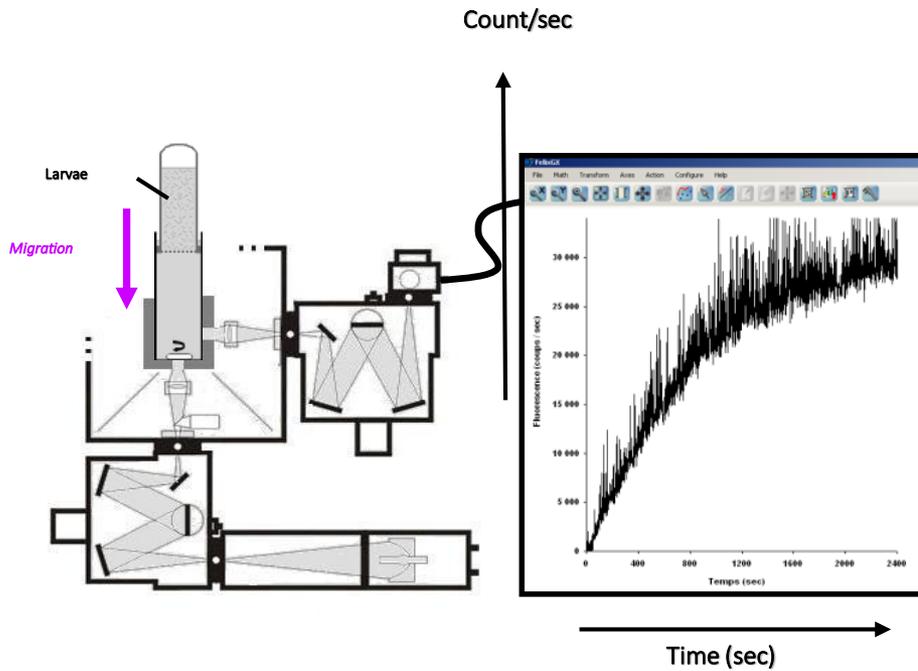
Fabrice Guegnard



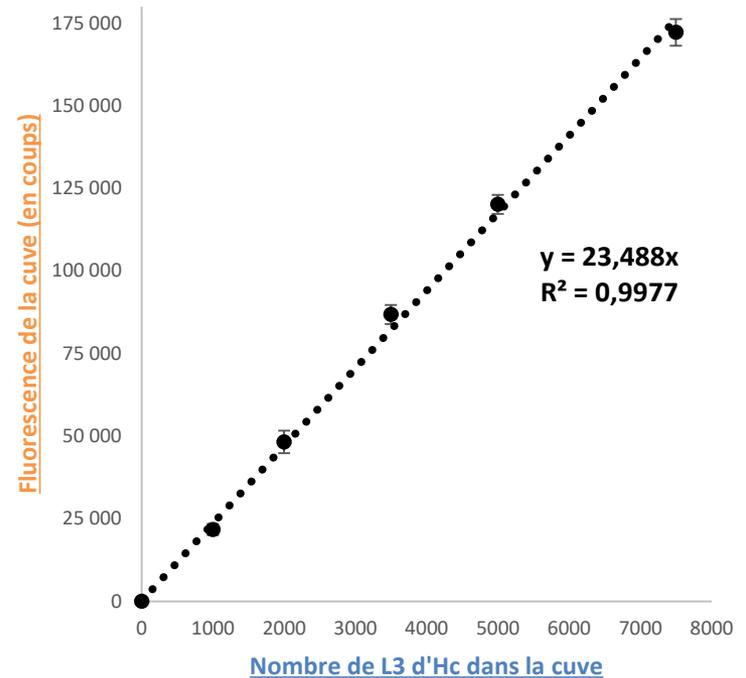
DIRV INRAe

La technologie ALMA tire avantage de l'auto-fluorescence des nématodes pour quantifier leur capacité de migration en temps réel vers la cuve de mesure d'un spectrophotomètre et ainsi d'évaluer de manière précise et rapide des modifications (même subtiles) de la mobilité des vers

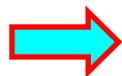
Test de migration avec quantification en fluorimétrie



Relation entre le Nbre de larves en migration /
accumulation de fluorescence de la cuve



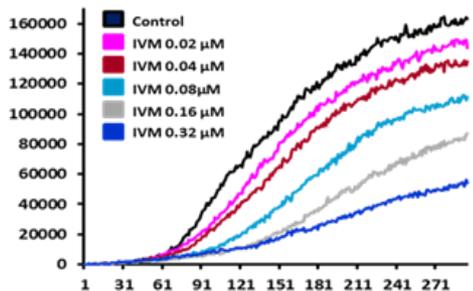
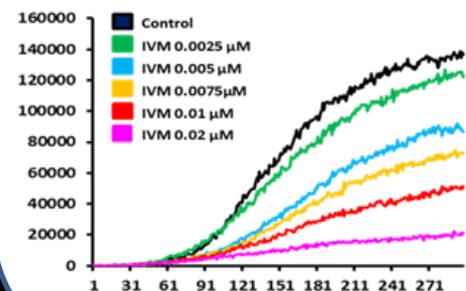
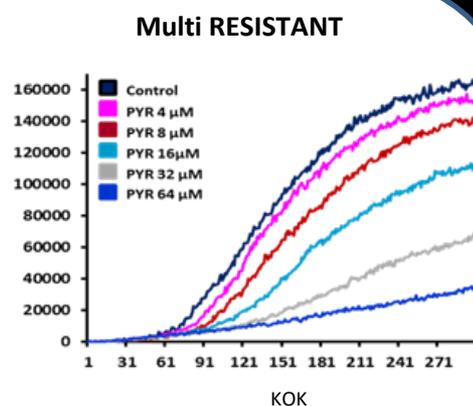
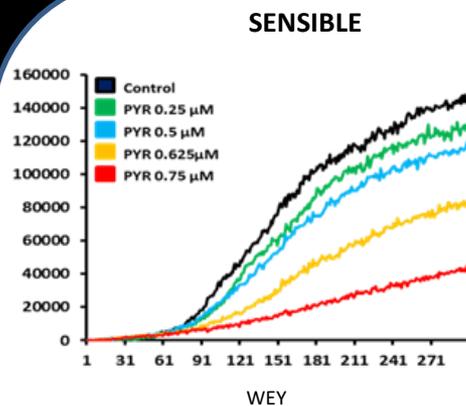
Les applications de l'ALMA



Caractérisation des isolats de parasites: résistance /sensibilité

Haemonchus contortus parasite ovins/caprins

Profils de migration avec des concentrations croissantes d'AH

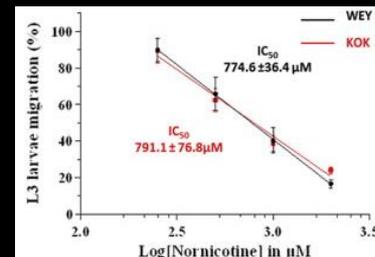
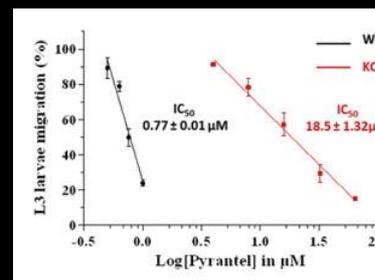


Charvet, Guegnard et al. IJPPDR 2019

Analyse des profils



Détection de la résistance
Détermination des EC_{50}
Ratio de Résistance



Identification de molécules actives sur les vers résistants

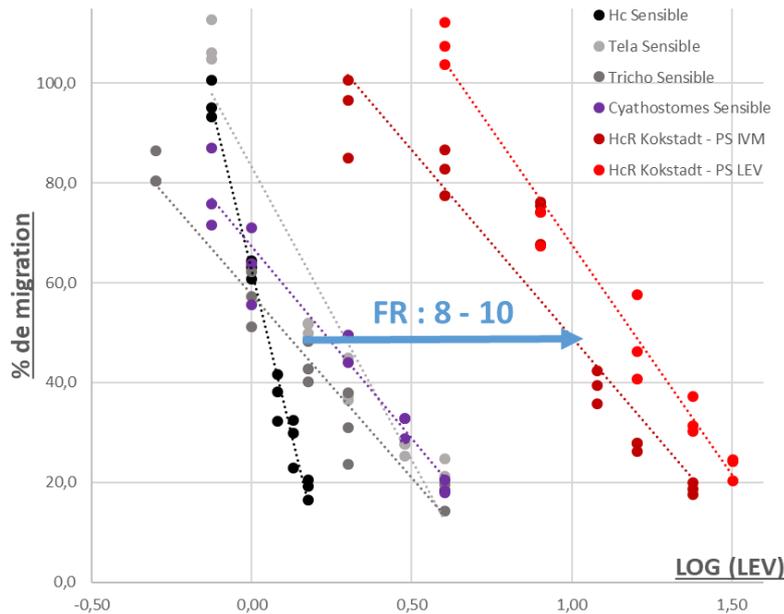
Les atouts de la technologie

**ALMA est applicable à l'ensemble des AHs disponibles sur le marché (sauf BZs)
(perspective de diagnostic S/R = antibiogramme)**

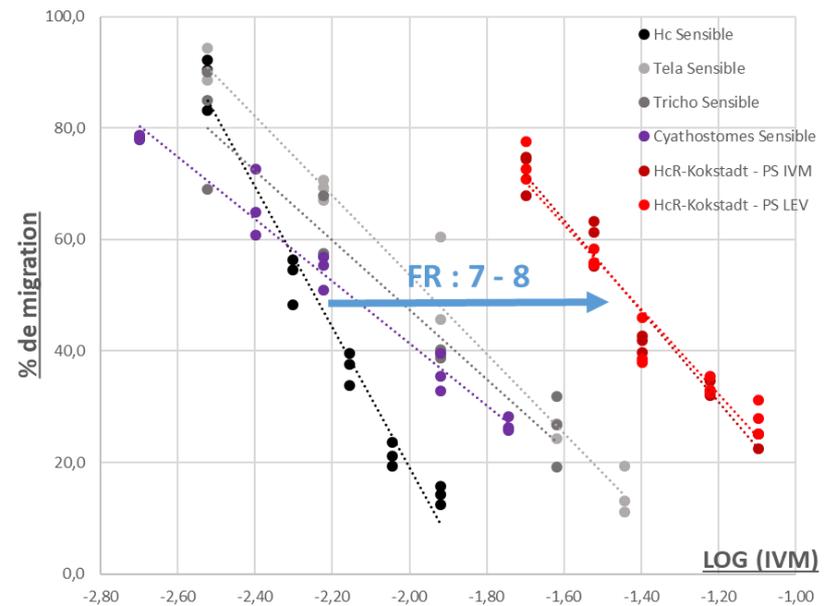
ALMA applicable à toutes les espèces les nématodes parasites les plus fréquemment rencontrés dans les élevages (ovins, caprins, bovins, équins, porcins, volailles) + parasites des plantes

les profils de migration des différentes espèces sont similaires et les facteurs de résistance observés permettent d'envisager une détection d'émergence de R chez des espèces en mélange: en parfaite adéquation avec les besoins du terrain

Levamisole



Ivermectine



Les limites de la technologie

1) Débit : 30 tests/jours

2) Quantités importantes de matériel biologique:

H. contortus 7500 larves par test

P. equorum 4500 larves par test

**Pas un verrou pour des applications
« recherches académiques »**



**Un frein majeur pour envisager une exploitation
à grande échelle d'un test « terrain »**



Miniaturisation des tests phénotypiques sur parasites

Développer une version « haut débit » de l'ALMA: MTA (Motility Trap Assay)

Débit : 30 tests/jour - Qté Parasites : 7500/molécules

Débit : 1000 tests/jour - Qté Parasites : 250/molécules

CONTRAT DE LICENCE
SUR SAVOIR-FAIRE (2019-2029)

Exploitation commerciale du test ALMA/MTA
pour le criblage de molécules anthelminthiques

En cours: Adaptation de la technologie ALMA/MTA
pour des applications « diagnostic »



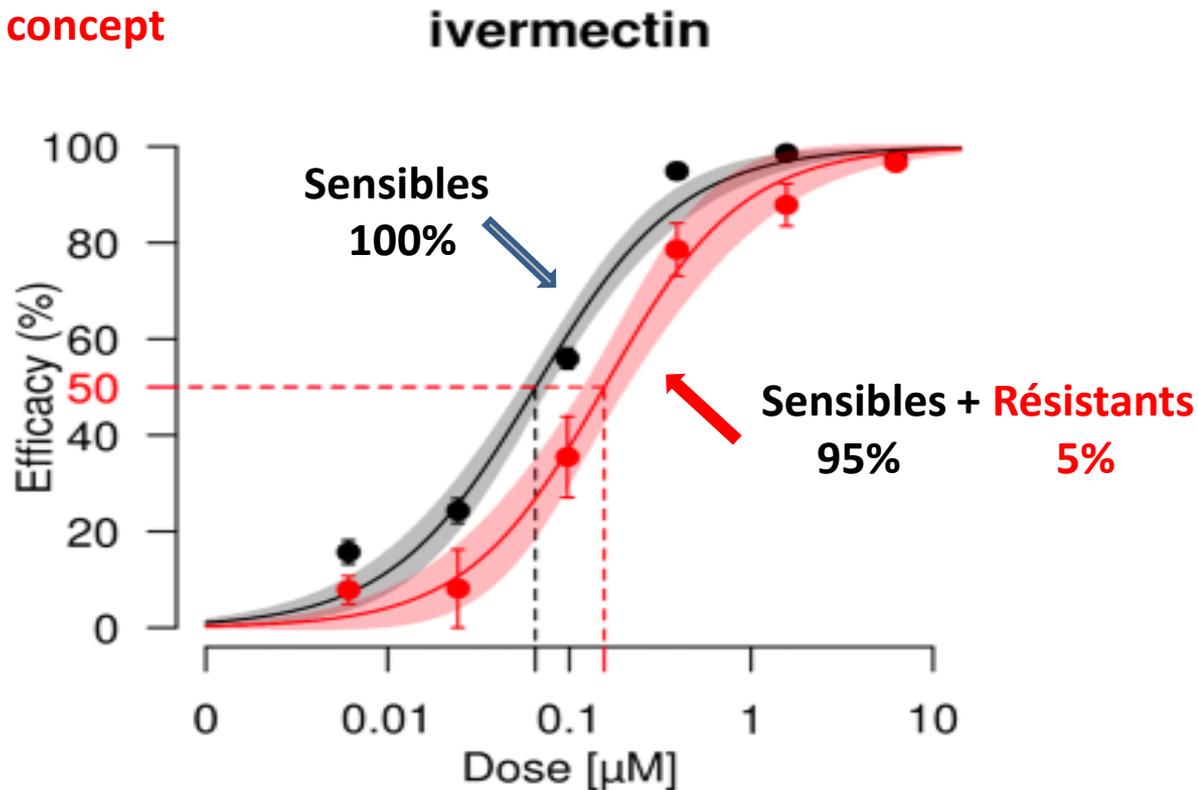
TEAM FRANCE
ALEXANDRE
VERNUDACHI, PhD
Managing Director INVENesis France



Développer un test à « haut-débit » pour la détection de l'émergence de résistances

Au laboratoire: Mélanges de vers sensibles et résistants (différents ratios)
Evaluer le seuil de détection de la résistance

Preuve de concept



STRATEGIE DE VALORISATION

DIRV: Exploitation de l' ALMA pour le diagnostic de la résistance chez des espèces en mélange

Nouveau contrat de recherche avec INVENesis France (adaptation du test HD)

Consortium **INRAe, ONIRIS, ENVT, ANSES, VetAgroSup (RFSA GT Resistance), + INVENesis**

➔ Evaluation et validation du nouveau test sur des isolats du terrain