



Université de POITIERS

Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNEE 2023

THESE

**POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Arrêté du 8 avril 2013)**

présentée et soutenue publiquement
le 21 Juin 2023, à POITIERS
par **Monsieur PINTAUD Arthur**
Né le 15 Décembre 1998

Etat des connaissances sur la dirofilariose cardio-pulmonaire et la babésiose canines, et place du pharmacien d'officine dans la lutte contre les maladies canines à transmission vectorielle

Composition du jury :

Présidente : Madame MARIVINGT-MOUNIR Cécile, Maitre de Conférence en Pharmacochimie (HDR)

Membre : Monsieur DAOUN Claude Tammam, Docteur en Pharmacie

Directrice de thèse : Madame IMBERT Christine, Professeure des Universités en Parasitologie et Mycologie



LISTE DES ENSEIGNANTS

Année universitaire 2022 – 2023

SECTION PHARMACIE

Professeurs des universités-praticiens hospitaliers

- COUET William, pharmacie clinique
- DUPUIS Antoine, pharmacie clinique – **Assesseur pédagogique pharmacie**
- FOUCHER Yohann, santé publique, biostatistiques et épidémiologie
- MARCHAND Sandrine, pharmacologie, pharmacocinétique
- RAGOT Stéphanie, santé publique

Professeurs des universités

- BODET Charles, microbiologie
- CARATO Pascal, chimie thérapeutique
- FAUCONNEAU Bernard, toxicologie
- GUILLARD Jérôme, pharmacochimie
- IMBERT Christine, parasitologie et mycologie médicale
- OLIVIER Jean-Christophe, pharmacie galénique, biopharmacie et pharmacie industrielle
- PAGE Guylène, biologie cellulaire, biothérapeutiques
- RABOUAN Sylvie, chimie physique, chimie analytique
- SARROUILHE Denis, physiologie humaine – **Directeur de la section pharmacie**

Maîtres de conférences des universités-praticiens hospitaliers

- BARRA Anne, immuno-hématologie
- BINSON Guillaume, pharmacie clinique
- THEVENOT Sarah, hygiène, hydrologie et environnement

Maîtres de conférences

- BARRIER Laurence, biochimie générale et clinique
- BON Delphine, biophysique
- BRILLAULT Julien, pharmacocinétique, biopharmacie
- BUYCK Julien, microbiologie
- CHAUZY Alexia, pharmacologie fondamentale et thérapeutique
- DEBORDE-DELAGE Marie, chimie analytique
- DELAGE Jacques, biomathématiques, biophysique
- FAVOT-LAFORGE Laure, biologie cellulaire et moléculaire (HDR)
- GIRARDOT Marion, biologie végétale et pharmacognosie
- GREGOIRE Nicolas, pharmacologie et pharmacométrie (HDR)
- HUSSAIN Didja, pharmacie galénique (HDR)
- INGRAND Sabrina, toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile, pharmacochimie (HDR)
- PAIN Stéphanie, toxicologie (HDR)
- PINET Caroline, physiologie, anatomie humaine
- RIOUX-BILAN Agnès, biochimie – **Référente CNAES – Responsable du dispositif COME'in**
- TEWES Frédéric, chimie et pharmacotechnie
- THOREAU Vincent, biologie cellulaire et moléculaire
- WAHL Anne, phytothérapie, herborisation, aromathérapie

Maîtres de conférences associés - officine

- DELOFFRE Clément, pharmacien
- ELIOT Guillaume, pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwin, pharmacien

ENSEIGNEMENT DE L'ANGLAIS

- DEBAIL Didier, professeur certifié

Remerciements

A Madame MARIVINGT-MOUNIR Cécile,

Merci à vous de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.
Merci également à vos enseignements qui ont été d'une grande pertinence durant mes études.

A Madame IMBERT Christine,

Merci à vous d'avoir accepté de diriger cette thèse. Merci pour votre confiance, votre écoute, vos précieux conseils, votre disponibilité, et pour le temps que vous avez investi sur ce travail. Vos enseignements tout au long du cursus universitaire m'ont grandement inspiré pour ce travail.

A Monsieur DAOUN Claude Tammam,

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de me faire l'honneur de juger ce travail. Merci pour ton accompagnement et pour les conseils que tu as pu m'apporter lors de mon stage de sixième année. Merci aussi aux bons moments qu'on a pu passer ensemble en dehors de la pharmacie et aux nombreux à venir.

A mes parents, Anne et Joachim,

Merci de m'avoir permis de réaliser ces études. Merci de m'avoir apporté soutien, amour, confiance, et encouragements. Je souhaite vous exprimer ma plus grande reconnaissance pour tout ce que vous m'avez apporté, et pour tous les sacrifices que vous avez fait.

A mes grands-parents,

Merci pour l'amour que vous m'avez apporté, pour votre sagesse et votre bienveillance. Merci pour tous les bons moments passés ensemble et pour ceux à venir.
Je tiens à remercier mon grand-père Henry, je ne t'oublie pas. Je te serai éternellement reconnaissant pour tout ce que tu m'as transmis.

Aux équipes officinales qui m'ont accueilli,

Je vous remercie pour votre patience, votre accueil, et pour votre gentillesse. Merci de m'avoir transmis vos savoirs et vos connaissances. Vous avez su m'inculquer l'amour de la profession et du travail en équipe. Je tiens à vous exprimer ma gratitude et ma reconnaissance.

A mes amis,

Merci d'avoir fait de ces années, et feront des prochaines, les meilleures qui soient.

Table des matières

Table des illustrations	6
Liste des abréviations.....	8
Introduction.....	10
I. Babésiose canine	11
1. Piroplasmes.....	11
a. Classification.....	11
b. Stades morphologiques.....	14
c. Cycle de développement.....	16
2. Hôtes vecteurs	18
a. Données générales	18
b. <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	21
c. <i>Dermacentor reticulatus</i>	24
3. Epidémiologie	26
a. <i>Babesia canis</i>	26
b. <i>Babesia vogeli</i>	27
c. <i>Babesia rossi</i>	27
d. <i>Babesia gibsoni</i>	27
e. <i>Babesia conradae</i>	28
f. <i>Babesia vulpes</i>	28
4. Physiopathologie et manifestations cliniques	29
5. Diagnostic.....	30
a. Diagnostic microscopique	30
b. Diagnostic sérologique	32
c. Diagnostic moléculaire	33
d. Approches protéomiques.....	34
6. Prophylaxie	35
a. Lutte antivectorielle	35
b. Chimio prophylaxie	36
c. Vaccination	36
7. Traitement	39
a. Traitement spécifique	39
b. Traitement symptomatique	46
II. Dirofilariose cardio-pulmonaire canine	47

1.	Parasite	47
a.	Classification.....	47
b.	Morphologie	49
c.	Cycle évolutif	51
2.	Hôtes vecteurs	55
a.	Classification.....	55
b.	Cycle évolutif	57
c.	Comportement	60
d.	Repas sanguin.....	60
3.	Epidémiologie	62
a.	Facteurs d'expansion de <i>Dirofilaria immitis</i>	62
b.	Europe	64
c.	Reste du monde	65
4.	Physiopathologie et manifestations cliniques	67
5.	Diagnostic.....	70
a.	Diagnostic clinique	70
b.	Diagnostic biologique	71
6.	Prophylaxie	74
a.	Lutte antivectorielle	74
b.	Chimioprophylaxie	74
7.	Traitement	77
III.	Lutte antivectorielle et place du pharmacien d'officine dans la lutte contre les maladies canines à transmission vectorielle en France	80
1.	Lutte contre les tiques	80
a.	Données générales	80
b.	Lutte mécanique.....	81
c.	Lutte chimique.....	82
2.	Lutte contre les moustiques	91
a.	Lutte mécanique.....	91
b.	Lutte chimique.....	91
3.	Place du pharmacien d'officine dans la lutte contre les maladies canines à transmission vectorielle	92
	Conclusion	96
	Résumé.....	97
	Mots clefs	97
	Bibliographie	99

Table des illustrations

Figures :

Figure 1 : Arbre phylogénétique obtenu en se basant sur l'analyse du gène codant pour la sous-unité 1 de la cytochrome c oxydase	12
Figure 2 : Frottis sanguin coloré au Giemsa mettant en évidence <i>B. canis</i> infectant des hématies canines. La flèche du haut montre une forme bigéminée du piroplasma, celle du bas montre une forme annulaire du piroplasma	14
Figure 3 : Piroplasmes de <i>B. gibsoni</i> contenus dans des globules rouges canins. Les flèches montrent des formes piroplasmiques annulaires.....	15
Figure 4 : Forme tétrade de <i>B. conradae</i> chez un chien infecté.....	15
Figure 5 : Représentation du cycle de vie parasitaire des piroplasmes appartenant au clade <i>Babesia sensu-stricto</i>	16
Figure 6 : Classification simplifiée des arthropodes hématophages	18
Figure 7 : Représentation de la morphologie d'une tique dure (Ixodidé)	19
Figure 8 : Stades morphologiques de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> . a : état larvaire (barre : 400 µm). b : état nymphal (barre : 500 µm). c : adulte femelle (barre : 1 mm). d : adulte mâle (barre : 1 mm)	23
Figure 9 : Répartition de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> en Europe en mars 2022.....	23
Figure 10 : Photographies de <i>Dermacentor reticulatus</i> adultes, femelle à gauche et mâle à droite	24
Figure 11 : Répartition de <i>Dermacentor reticulatus</i> en Europe en mars 2022.....	25
Figure 12 : Répartition des infections canines à <i>B. gibsoni</i> en Europe	27
Figure 13 : Frottis sanguin coloré au Giemsa représentant des mérozoïtes de <i>B. vogeli</i> dans des érythrocytes canins libres et phagocytés	31
Figure 14 : Arbre décisionnel du diagnostic de la babésiose canine, recommandé par l'ESCCAP : European Scientific Counsel Companion Animal Parasites	35
Figure 15 : Structure chimique du dipropionate d'imidocarbe	39
Figure 16 : Structure chimique de l'acéturate de diminazène.....	41
Figure 17 : Structure chimique de l'atovaquone.....	42
Figure 18 : Structure chimique de l'azithromycine	43
Figure 19 : Structure chimique de la buparvaquone	43
Figure 20 : Arbre phylogénétique se basant sur l'analyse moléculaire du gène codant pour l'ARN ribosomal 18S.....	48
Figure 21 : Représentation de <i>D. immitis</i> adulte mâle (en haut) et adulte femelle (en bas) ..	50
Figure 22 : Grand (flèche) et petit (tête de flèche) spicule de <i>D. immitis</i> au microscope électronique (barre : 30 µm).....	50
Figure 23 : Extrémité antérieure d'une femelle de <i>D. immitis</i> avec l'ouverture vulvaire (flèche noire) et l'anneau nerveux (flèche bleue) (barre : 200 µm)	51
Figure 24 : Représentation du cycle de vie de <i>D. immitis</i> chez le chien	54
Figure 25 : Cycle de vie des Culicidés	57
Figure 26 : Représentation des pièces buccales d'une femelle Culicidé	60

Figure 27 : Photographie d' <i>Aedes albopictus</i> effectuant son repas sanguin chez un être humain.....	61
Figure 28 : Répartition géographique de <i>D. immitis</i> chez le chien en Europe en 2021.....	64
Figure 29 : Vers adultes de <i>D. immitis</i> au sein du ventricule droit d'un chien infesté	67
Figure 30 : Structure chimique du dimpylate.....	83
Figure 31 : Structure chimique de la perméthrine.....	85
Figure 32 : Structure chimique du fipronil	86
Figure 33 : Structure chimique de l'afoxolaner.....	87

Tableaux :

Tableau 1 : Classification morphologique des principaux piroplasmes ayant pour hôte principal le chien	13
Tableau 2 : Tableau taxonomique des parasites responsables de la piroplasmose canine	13
Tableau 3 : Tique vectrice de différentes espèces parasitaires	21
Tableau 4 : Tableau comparatif des principales caractéristiques du vaccin PIRODOG®	38
Tableau 5 : Principales molécules et associations de molécules recommandées en cas de babésiose canine en fonction de l'espèce de <i>Babesia</i> impliquée.....	45
Tableau 6 : Classification taxonomique des espèces de <i>Dirofilaria</i> responsables de dirofilarioses canines.....	48
Tableau 7 : Taille des différents stades parasitaires de <i>D. immitis</i>	49
Tableau 8 : Classification taxonomique des Culicidés.....	56
Tableau 9 : Tableau des périodes de transmission potentielles de <i>D. immitis</i> dans différentes villes d'Europe	65
Tableau 10 : Classification des différents signes cliniques possibles suite à l'infestation canine à <i>D. immitis</i>	69
Tableau 11 : Caractéristiques des différentes lactones macrocycliques utilisées dans la chimioprophylaxie de la dirofilariose cardio-pulmonaire canine	76
Tableau 12 : Protocole de traitement de la dirofilariose cardio-pulmonaire canine recommandé par l'American Heartworm Society (2020).....	79
Tableau 13 : Caractéristiques de certaines spécialités utilisées en tant qu'antiparasitaires externes chez le chien en France	95

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANMV : Agence Nationale du Médicament Vétérinaire

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

APS : Antigènes Parasitaires Solubles

ARN : Acide Ribonucléique

ARNm : Acide Ribonucléique messenger

ATP : Adénosine Tri-Phosphate

CBA : Canine *Babesia* Antigen

COX-1 : Sous-unité 1 de la cytochrome c oxydase

cm : centimètre

CPVL : Centre de Pharmacovigilance Vétérinaire de Lyon

CSP : Code de la Santé Publique

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

DGCCRF : Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes

ECDPC : European Centre for Disease Prevention and Control

ELISA : Enzyme-linked Immunosorbent Assay

EMA : European Medicines Agency

ESCCAP : European Scientific Counsel Companion Animals Parasites

EEE : Espace Economique Européen

FDA : Food and Drug Administration

GABA : Acide Gamma-Aminobutyrique

IFAT : Indirect Fluorescence Antibody Test

IFI : Immunofluorescence Indirecte

IM : Intramusculaire

LAMP : Loop Mediated Isothermal Amplification

MALDI-TOF : Matrice Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight

MDR-1 : Multi Drug Resistance 1

MS : Mass Spectrometry

NaCl : Chlorure de sodium

P-gp : Glycoprotéine P

PCR : Polymerase Chain Reaction

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit
RFLP : Restriction Fragment Length Ppolymorphism
RLB : Reverse Line Blot Hybridization
RPE : Rapports Publics d'Evaluation
S : Svedberg
SC : Sous-Cutanée
SDRA : Syndrome de Dépression Respiratoire Aiguë
SNC : Système Nerveux Central
spp : species plurales

Introduction

Le chien fait partie des mammifères de compagnie les plus présents au sein des foyers français. En effet selon une enquête menée en 2020, il y a près de 7,5 millions de chiens en France (*Fédération de Fabricants d'Aliments pour Chiens, Chats, Oiseaux*, 2023).

Ce dernier est sujet à de multiples maladies parasitaires transmises par des arthropodes hématophages. Les arthropodes hématophages impliqués dans la transmission d'agents infectieux aux chiens, qui sont donc par définition vecteurs des maladies associées, sont principalement représentés par les tiques, les moustiques, les phlébotomes et les puces. Il faut savoir que les tiques ainsi que les moustiques sont les vecteurs les plus importants en santé humaine et animale (Beugnet et al., 2021b).

Nous axerons notre étude sur deux maladies canines à transmission vectorielle : la babésiose et la dirofilariose cardio-pulmonaire canines. La babésiose canine est causée par des agents protozoaires appartenant au genre *Babesia*, communément nommés piroplasmés. Il existe plusieurs espèces de piroplasmés pouvant provoquer cette maladie, chaque espèce ayant sa propre répartition géographique et étant à l'origine de différents tableaux cliniques chez le chien. La dirofilariose canine est, quant à elle, due à un nématode parasite du genre *Dirofilaria*. Nous présenterons la dirofilariose cardio-pulmonaire canine causée par *Dirofilaria immitis*, qui est la forme la plus virulente chez le chien.

Ces deux maladies sont des maladies émergentes qui touchent des territoires géographiques communs chez le chien. Elles sont sensibles aux modifications environnementales et connaissent une expansion depuis quelques décennies, en relation notamment avec le réchauffement climatique, les échanges commerciaux, les voyages qui aboutissent à une augmentation du nombre de vecteurs infectés (Dzięgiel et al., 2016).

Dans une première partie, nous présenterons la babésiose canine, anciennement nommée piroplasmose canine. Nous aborderons les aspects cliniques, physiopathologiques et épidémiologiques de cette maladie, ainsi que les différentes approches diagnostiques, vaccinales, chimioprophylactiques et thérapeutiques qui existent chez le chien. Nous nous intéresserons également aux tiques dures, dont certaines espèces sont des vecteurs impliqués dans la transmission de la babésiose canine.

Nous nous intéresserons dans une deuxième partie à la dirofilariose canine. Pour cela nous aborderons les différents éléments physiopathologiques, cliniques et épidémiologiques de cette maladie ainsi que les différentes approches diagnostiques, chimioprophylactiques et thérapeutiques pouvant être réalisées chez le chien. Nous présenterons également les caractéristiques des moustiques vecteurs de cette maladie.

Enfin, dans une dernière partie, nous présenterons les différentes méthodes de lutte antivectorielle employées chez le chien contre les tiques et les moustiques. Nous aborderons également la place et le rôle essentiel du pharmacien d'officine dans la lutte contre les maladies canines transmises par les tiques et les moustiques chez le chien.

I. Babésiose canine

1. Piroplasmes

a. Classification

Les parasites impliqués dans la babésiose canine (également nommée piroplasmose canine), peuvent être désignés « piroplasmes » ou « babésies ». Ces parasites sont multiples, et classés historiquement en grandes et petites babésies.

Le positionnement phylogénétique des différentes espèces de piroplasmes au sein d'un arbre phylogénétique (Figure 1) résulte de l'étude moléculaire des divergences génétiques existant entre ces espèces (Baneth, 2018a) (Vargas et al., 2011). L'approche moléculaire la plus répandue est la comparaison de la variabilité des séquences du gène codant pour l'ARN ribosomal 18S (correspondant à la sous-unité mineure du ribosome). En effet cette séquence reste à ce jour la plus représentée au sein d'une base de données internationale de séquence génétique : GenBank. Il existe d'autres séquences génétiques exploitables pour différencier les Apicomplexes, notamment l'étude de séquences génétiques codant pour une protéine de surface du mérozoïte (Bc28.1) ; pour l'adénosine kinase ; l'utilisation du génome complet mitochondrial ou d'une séquence partielle de la sous-unité 1 de la cytochrome c oxydase (COX-1) (Schnittger et al., 2012 ; Schreeg et al., 2016).

La limite d'utilisation de la séquence codante de l'ARN ribosomal 18S pour l'établissement de la classification phylogénétique des Apicomplexes, est une variation de séquences insuffisante pour différencier certaines espèces d'Apicomplexes ainsi que la présence de paralogues. Les paralogues sont des gènes dérivant d'un même gène ancestral commun ayant subi une duplication génétique, qui évoluent différemment au cours de l'évolution et vont posséder des fonctions spécifiques (Hrazdilová et al., 2019).

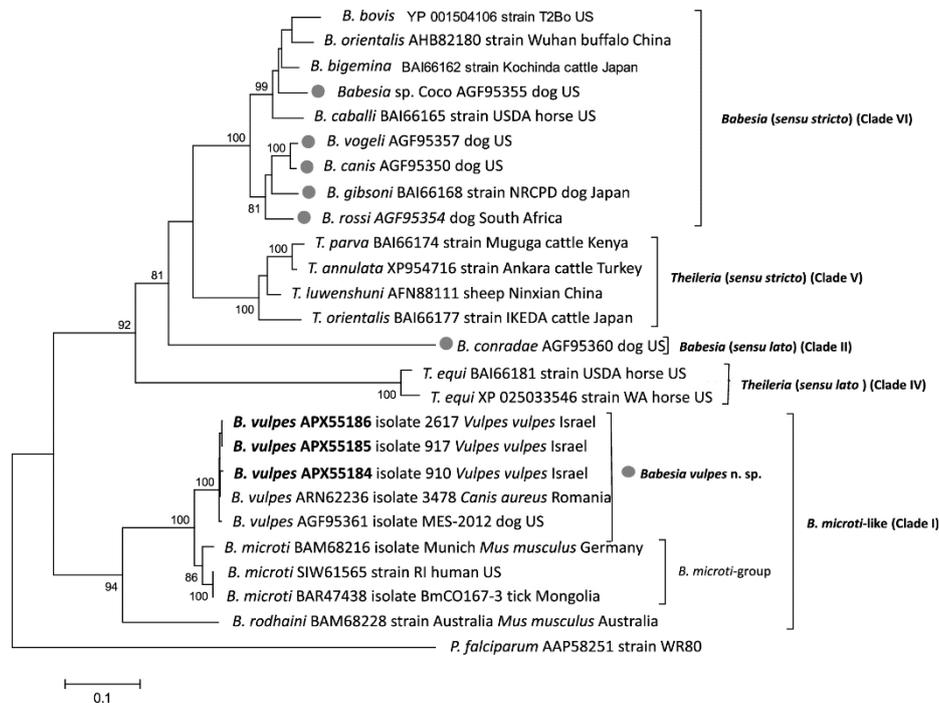


Figure 1 : Arbre phylogénétique obtenu en se basant sur l'analyse du gène codant pour la sous-unité 1 de la cytochrome c oxydase, d'après Baneth et al. (2019)

Historiquement, l'espèce *Babesia canis* comprenait trois sous-espèces : *Babesia canis canis*, *Babesia canis rossi* et *Babesia canis vogeli*. Ces sous-espèces sont actuellement considérées comme des espèces distinctes d'un point de vue génétique et clinique, et sont nommées : *B. canis*, *Babesia rossi*, et *Babesia vogeli* (Zahler et al., 1998). Historiquement, les « grandes babésies » étaient distinguées de la « petite babésie » (Boozer & Macintire, 2003).

Les grandes babésies, à savoir *B. canis*, *B. vogeli* et *B. rossi*, et la petite babésie, *Babesia gibsoni*, appartiennent à un seul clade (clade VI), et forment un groupe unique, monophylétique, désigné *Babesia sensu stricto* (Tableau 1). *Babesia vulpes* et *Babesia conradae* appartiennent à des clades différents : ils forment deux groupes monophylétiques distincts, désignés respectivement *Babesia microti-like* (clade I) et *Babesia sensu lato* (Clade II) (Baneth et al., 2019).

La différenciation de ces piroplasmes canins peut également se faire selon la morphologie du stade parasitaire mérozoïte. Toutefois, la classification reposant sur la morphologie (Tableau 1) est actuellement jugée insuffisante, notamment parce que les mérozoïtes de *B. canis* peuvent devenir ronds et rétrécis en post-mortem, les rendant non distinguables de ceux des petites babésies (Anzulović Šanta et al., 2015).

Tableau 1 : Classification morphologique des principaux piroplasmes ayant pour hôte principal le chien, modifié d'après Baneth et al. (2015)

Petites babésies (1.0 - 2.5 µm)	<i>B. gibsoni</i> <i>B. conradae</i> <i>B. vulpes</i> (= <i>Theileria annae</i> , <i>Babesia annae</i> , <i>Babesia microti-like</i>)
Grandes babésies (2.5 – 5.0 µm)	<i>B. canis</i> <i>B. rossi</i> <i>B. vogeli</i>

Le tableau 2 présente la classification phylogénétique des piroplasmes canins.

Tableau 2 : Tableau taxonomique des parasites responsables de la piroplasmose canine, modifié d'après Jossand (2016)

Règne	Protistes
Sous-règne	Protozoaires
Embranchement	Sporozoaires
Sous-embranchement	Apicomplexes
Classe	Hématozoaires
Ordre	Piroplasmides
Famille	Babésiidés
Espèces	<i>B. canis</i> , <i>B. vogeli</i> , <i>B. rossi</i> , <i>B. gibsoni</i> , <i>B. conradae</i> , <i>B. vulpes</i>

Ces parasites appartiennent au règne des Protistes, car ce sont des organismes unicellulaires eucaryotes (possèdent un noyau délimité par une membrane). Le fait que ces parasites soient hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils ne soient pas capables de synthétiser des constituants organiques à partir de la matière minérale, les classent parmi les Protozoaires.

Ces parasites alternent des phases de reproduction sexuée et asexuée, appelées gamogonie, sporogonie et schizogonie, dans les tissus et cellules de leurs hôtes. Ils appartiennent donc aux Sporozoaires. Leur complexe apical leur permet de pénétrer activement dans les cellules hôtes et font de ces parasites des Apicomplexes.

A certains de leurs stades, ces Apicomplexes se développent dans des érythrocytes et sont transmis par des tiques de la famille des Ixodidés ou des Argasidés permettant de les considérer comme des hématozoaires Piroplasmides.

Les organismes appartenant à la famille des Babésiidés se caractérisent par un développement intra-érythrocytaire strict, ainsi que par une transmission transovarienne chez la tique pour

les piroplasmes appartenant au clade *Babesia sensu-stricto*. Les espèces *B. canis*, *B. vogeli*, *B. rossi*, *B. gibsoni*, *B. vulpes* et notamment *B. conradae* appartiennent à cette famille (Baneth, 2018b).

b. Stades morphologiques

• Grandes babésies

La taille et la forme des piroplasmes dans le sang sont des éléments pouvant orienter vers une espèce parasitaire en particulier.

Les grandes babésies sont caractérisées par une taille supérieure à 2,5 μm lorsqu'elles sont intra-érythrocytaires. Leur taille est souvent supérieure au rayon d'une hématie.

Différents stades morphologiques des piroplasmes sont observables au sein des hématies de chiens infectés, dont les trophozoïtes, stades auxquels les piroplasmes se présentent sous forme annulaire (Figure 2, flèche du bas).

D'autres formes allongées, dites « piriformes », sont également observables dans les hématies de chiens infectés. Ces formes résultent de la scission binaire des trophozoïtes annulaires, lors de la mérogonie (division asexuée).

Des formes dites « bigéminées » (Figure 2, flèche du haut), sont aussi observées et correspondent à un complexe formé de deux éléments piriformes reliés par leur extrémité la plus fine. Dans le cas des grandes babésies, l'angle obtenu par cette association est généralement inférieur à 90°. Ces formes bigéminées sont spécifiques de *B. canis* (Jossand, 2016 ; Maslin et al., 2004).

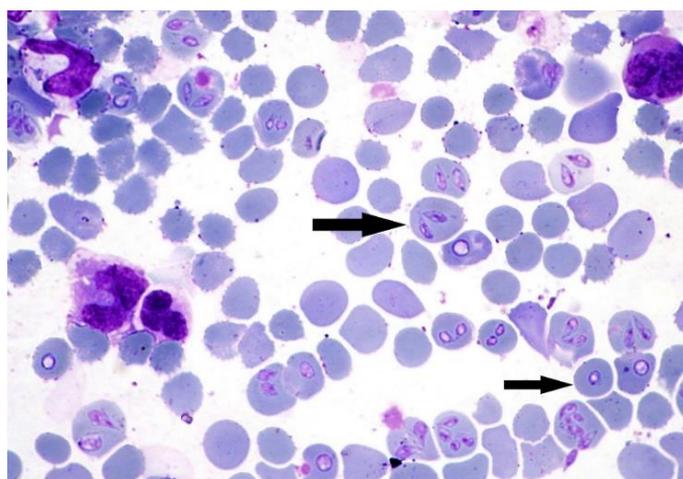


Figure 2 : Frottis sanguin coloré au Giemsa mettant en évidence *B. canis* infectant des hématies canines. La flèche du haut montre une forme bigéminée du piroplasme, celle du bas montre une forme annulaire du piroplasme, d'après Walker (1899)

- Petites babésies

Les petites babésies sont caractérisées par une taille inférieure à 2,5 μm lorsqu'elles se situent à l'intérieur des hématies de leur hôte canin parasité.

Les formes annulaires des petites babésies sont reconnaissables par leur petit diamètre, généralement inférieur au rayon d'une hématie (Figure 3, les 2 flèches).

Contrairement à ce qui est observé dans le cas des grandes babésies, les formes bigéminées des petites babésies présentent un angle supérieur à 90°.

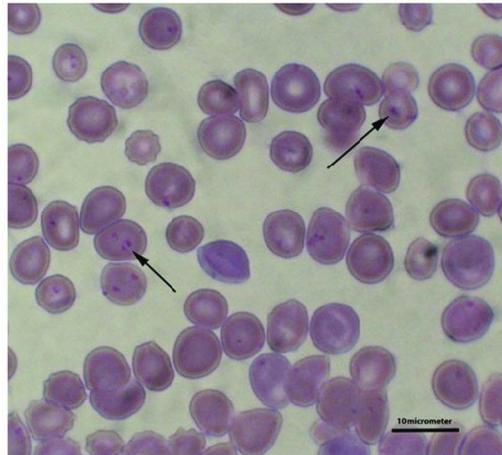


Figure 3 : Piroplasmiques de *B. gibsoni* contenus dans des globules rouges canins. Les flèches montrent des formes piroplasmiques annulaires, d'après Teodorowski et al. (2022)

Il peut également se former des complexes de quatre éléments intra-érythrocytaires piriformes reliés par leur extrémité la plus fine (Figure 4). Ces tétrades de mérozoïtes sont qualifiées de « croix de malte ». Ces tétrades peuvent se former soit suite à l'infestation par deux trophozoïtes, soit suite à la double fission binaire d'un trophozoïte. Ces tétrades de mérozoïtes sont très caractéristiques des petites babésies (Maslin et al., 2004).

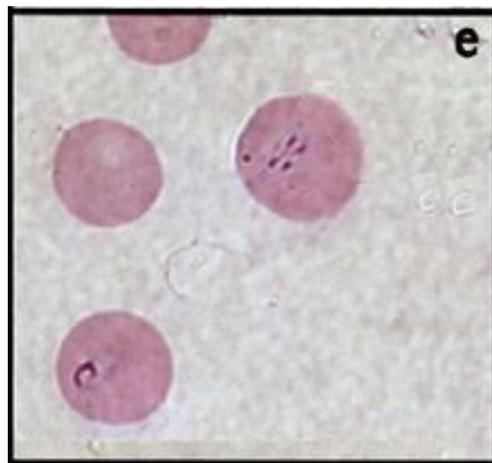


Figure 4 : Forme tétrade de *B. conradae* chez un chien infecté d'après Kjemtrup et al. (2006)

c. Cycle de développement

Le cycle parasitaire est dixène, avec la présence d'un hôte définitif chez lequel s'effectue la reproduction sexuée, et d'un hôte intermédiaire chez lequel se déroule la reproduction asexuée. Comme visible sur la Figure 5, ce cycle est divisé en trois étapes successives caractéristiques des Apicomplexes : schizogonie (ou mérogonie), gamogonie, et sporogonie (Jalovecka et al., 2019).

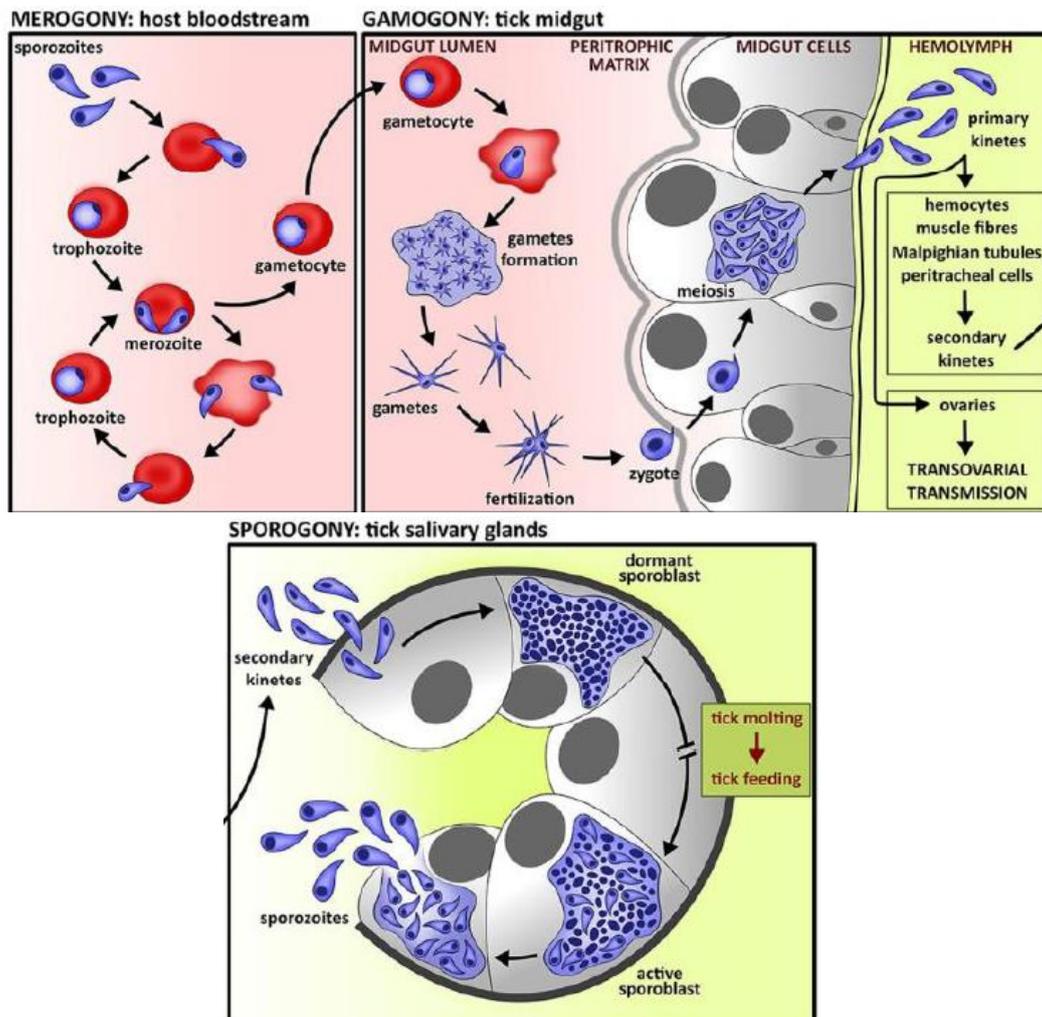


Figure 5 : Représentation du cycle de vie parasitaire des piroplasmes appartenant au clade Babesia sensu-stricto, d'après Jalovecká et al. (2018)

Le cycle de vie parasitaire commence lors de l'inoculation de sporozoïtes dans le sang de l'hôte intermédiaire, à savoir le chien, infesté par l'hôte définitif hématophage, la tique. Ces sporozoïtes sont libérés dans la salive de la tique, lors de la morsure.

L'orientation du pôle apical des piroplasmes permet leur contact avec la membrane des hématies de l'hôte vertébré infecté (Lobo et al., 2012). Les piroplasmes possèdent des rhoptries au niveau du pôle apical qui permettent la libération d'enzymes protéolytiques contenues dans leurs organelles et favorisent ainsi la pénétration du sporozoïte (Mehlhorn & Shein, 1984).

Les sporozoïtes se différencient ensuite en trophozoïtes, directement après l'infection de l'hématie. Intervient ensuite une étape de réplication asexuée par fission binaire, nommée schizogonie ou mérogonie, qui donne naissance aux mérozoïtes. Les mérozoïtes se multiplient selon ce procédé, jusqu'à provoquer une lyse cellulaire du globule rouge envahi. Les mérozoïtes libérés colonisent d'autres hématies et effectuent de nouveau cette division asexuée. Les mérozoïtes internalisés dans les globules rouges, peuvent également s'engager sexuellement, et donner naissance à des formes sphéroïdes : les gamétocytes intra-érythrocytaires (Figure 5). Cet événement initie la phase de gamogonie. Les gamétocytes sont des stades pré-sexués, destinés à se différencier en gamètes dans la lumière intestinale de l'hôte définitif. Le stade gamétocyte ne se divise pas, à la différence du stade mérozoïte. Les gamétocytes sont morphologiquement différents des mérozoïtes, cependant, seule la microscopie électronique permet d'observer cette divergence morphologique (Baneth, 2018a ; Irawan, 2015).

Lors de son repas sanguin, la tique ingère des érythrocytes canins, parmi lesquels certains contiennent des mérozoïtes et d'autres des gamétocytes. Les globules rouges contenant des mérozoïtes seront détruits dans la lumière intestinale de la tique.

Les gamétocytes, non détruits dans la lumière intestinale de la tique, subissent une réorganisation structurelle et évoluent en gamètes, autrement nommés corps rayonnés, corps étoilés ou Strahlenkörper, en raison de la présence de fines projections. Ces gamètes se divisent et forment des agrégats, qui libéreront des gamètes haploïdes dans la lumière intestinale de la tique (Yabsley & Shock, 2013). Deux types de gamètes seront produits.

La fécondation résulte en la fusion des deux types de gamètes, donnant naissance à un zygote diploïde mobile, l'ookinète. Ce dernier pénètre dans les cellules épithéliales intestinales de la tique, notamment par sa structure en pointe de flèche lui permettant une libération d'enzymes. Une fois intracellulaire, le zygote adopte une forme sphérique et subit une méiose pour produire de nombreux kinètes haploïdes (Visee, 2008).

Ces kinètes primaires vont alors se retrouver dans l'hémolymphe, le liquide corporel de la tique, et ainsi diffuser dans ses organes périphériques. Ils se retrouveront notamment dans les cellules du système immunitaire, les fibres musculaires, les tubules de Malpighi, les cellules pérित्रachéales (Jalovecka et al., 2019). Les kinètes des piroplasmes appartenant au clade *Babesia sensu-stricto* ont la particularité d'envahir les cellules ovariennes de l'hôte invertébré, permettant une transmission transovarienne de ces parasites à la génération suivante. Cette particularité est unique parmi les Apicomplexes, et explique la persistance du parasite sans la présence préalable d'hôte vertébré réservoir (Mierzejewska et al., 2018).

Les kinètes primaires répartis dans les tissus périphériques subissent une multiplication asexuée (fission multiple), formant alors les kinètes secondaires qui se dirigent ensuite dans les glandes salivaires de la tique. Cette phase de sporogonie se produit dans les cellules des glandes salivaires, et conduit à la maturation des kinètes. Au cours de la sporogonie, les kinètes forment une masse cytoplasmique multinucléée, nommée sporoblaste, qui reste quiescente lors du développement de la tique, permettant la transmission transstadiale du parasite (Uilenberg, 2006).

Lors du prochain repas sanguin de la tique, le sporoblaste sortira de sa quiescence et libérera de nombreux sporozoïtes dans la salive de la tique. Ce processus prend généralement 48 heures (Bilić et al., 2018). Les sporozoïtes adopteront une forme piriforme, et posséderont des organelles apicales permettant d’envahir les cellules cibles.

Les sporozoïtes seront ainsi relargués dans la circulation sanguine de l’hôte intermédiaire lors du repas sanguin.

La transmission des parasites peut se faire par d’autres moyens que par morsure de tiques, notamment par transfusion sanguine, comme cela a été décrit pour *B. gibsoni* et *B. canis* (Freeman et al., 1994 ; Stegeman et al., 2003). *B. gibsoni* serait également transmis par morsure de chiens à chiens, notamment pour les races de chiens de combat (M.-J. Lee et al., 2009 ; Yeagley et al., 2009).

2. Hôtes vecteurs

a. Données générales

Les hôtes définitifs des piroplasmides sont des tiques, elles hébergent la reproduction sexuée de ces parasites. Seules les tiques de la famille des Ixodidés, à savoir les tiques dites « dures », transmettent les parasites de l’ordre des Piroplasmides. Les tiques sont les vecteurs les plus impliqués dans la transmission d’agents pathogènes chez les animaux domestiques (Fonte, 2008 ; Rubio Robles et al., 2015).

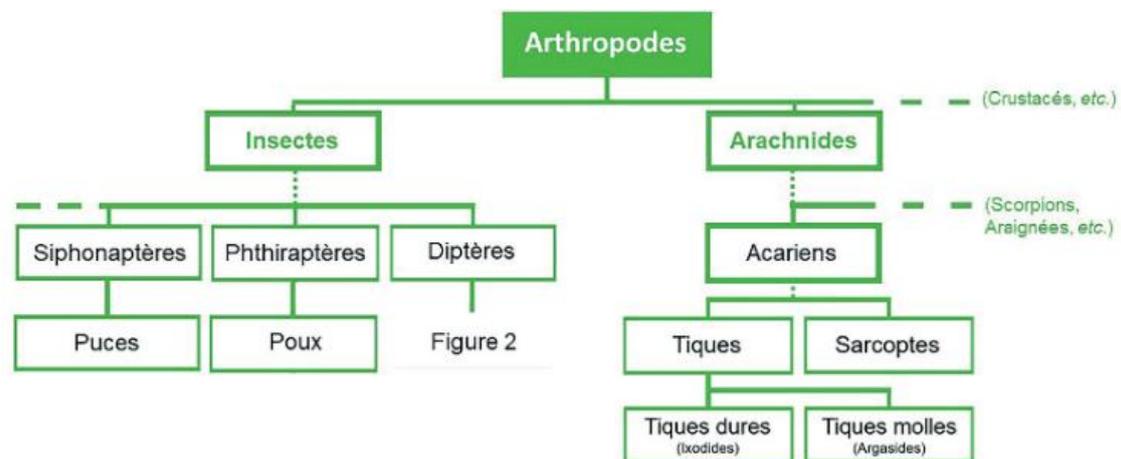


Figure 6 : Classification simplifiée des arthropodes hématophages, d’après Pierre-Olivier (2022)

Les tiques dures effectuent un repas de sang complet à chacun de leur stade : ce sont des acariens hématophages stricts, nécessitant la présence d’hôtes vertébrés variés (mammifères, oiseaux, reptiles, amphibiens). L’homme est toujours un hôte accidentel. Elles repèrent leurs hôtes via les odeurs, la chaleur, le dioxyde de carbone qu’ils émettent (Boulanger & Lipsker, 2015). Au stade adulte, seule la femelle effectue un repas sanguin prolongé sur l’hôte pour

permettre la maturation de ses œufs. Le mâle, très peu voire non hémaphage, se retrouve sur l'hôte principalement pour l'accouplement. Les chélicères de la tique altèrent les tissus de l'hôte afin de faciliter la pénétration du rostre. Puis les glandes salivaires de la tique sécrètent un ciment qui se solidifie rapidement, permettant un ancrage plus solide aux tissus de l'hôte. Le gorgement de la tique dure femelle s'effectue ainsi en deux temps (jusqu'à quatre millilitres de sang) : une phase d'aspiration lente d'environ 48 heures puis une phase d'aspiration rapide variant de trois jours à quatre jours selon l'espèce, et interrompue par des phases de sécrétions salivaires (Perez-Eid, 2007). L'aspiration de sang s'effectue à vitesse constante pour les larves et les nymphes. La tique femelle effectue son repas de sang complet seulement s'il y a fécondation, permettant le passage à la phase de gorgement rapide. C'est lors de la phase de gorgement rapide que la tique risque de transmettre des agents pathogènes à l'hôte.

La salive contient des molécules antiagrégantes plaquettaires et anticoagulantes, qui facilitent la prise du repas de sang. La dernière sécrétion salivaire permet de dissoudre le ciment, et ainsi la tique repue tombe de son hôte (Rebaud, 2006).

Les tiques appartiennent à l'embranchement des Arthropodes, qui constituent le plus grand clade du monde vivant et ont un corps segmenté avec des pattes articulées à l'âge adulte (Figure 6) (Montag, 2022). Les tiques font partie du sous-embranchement des Chélicérates, notamment par la présence de chélicères, au nombre de deux, permettant la pénétration dans les tissus de l'hôte ; mais également par la présence de pédipalpes ayant un rôle purement sensoriel (Figure 7) (Guiguen et al., 2019).

Les tiques se rangent dans la classe des Arachnides par la présence de leurs huit pattes marcheuses, sauf à l'état larvaire (Figure 7) (Perez-Eid & Gilot, 1998).

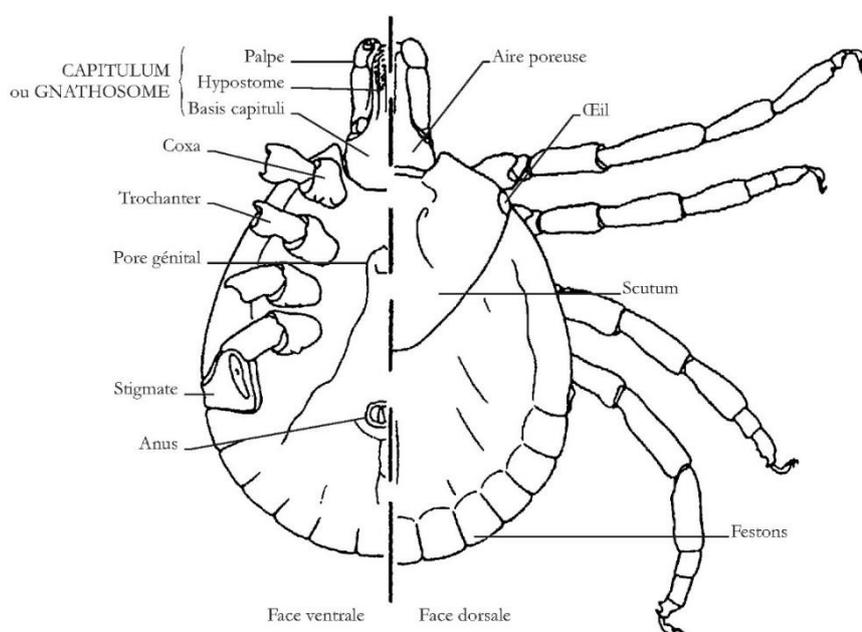


Figure 7 : Représentation de la morphologie d'une tique dure (Ixodidé), d'après Bonnet et al. (2017)

Leur corps est constitué d'une partie comportant les pièces buccales nommée gnathosome (ou capitulum) et d'une seconde portant les pattes, nommée idiosome (Figure 7). C'est pour cela qu'on les classe au sein de l'ordre des Acari, et la présence de stigmates (orifices respiratoires) à l'arrière des pattes les classe dans le sous-ordre des Ixodidés (« tiques ») (Lecointre & Le Guyader, 2017 ; Rakover, 2018 ; Visee, 2008).

Les tiques dures possèdent une face dorsale kératinisée, appelée scutum, bouclier ou écusson dorsal. Elles vivent dans le milieu extérieur, contrairement aux tiques molles qui se cantonnent plutôt aux grottes, terriers et nids d'oiseaux (Gonzalez, 2013).

La présence de cet écusson dorsal est à l'origine d'un dimorphisme sexuel marqué. Chez le mâle, il comprend la majeure partie de l'idiosome dorsal limitant ainsi sa distension lors du repas sanguin, alors que chez la femelle, ce scutum est très limité en taille, lui permettant de multiplier son volume considérablement lors du repas sanguin (Douine, 2020).

Il y a trois stades de vie morphologiquement distinguables chez la tique : larve, nymphe et adulte. La larve possède trois paires de pattes marcheuses alors que la nymphe et l'adulte en possèdent quatre (Perez-Eid & Gilot, 1998).

Le développement des différentes espèces de tiques dépend d'un certain nombre de facteurs environnementaux : température, hygrométrie, disponibilité des hôtes, prédateurs (certains oiseaux). Ces facteurs sont impliqués dans la répartition géographique des différentes espèces de tiques (Agoulon et al., 2017).

Les tiques présentent une pathogénicité directe et indirecte. Leur rôle pathogène direct est associé à une action mécanique via le franchissement de la barrière cutanée, mais il y a également une action allergisante par sécrétion salivaire, ainsi qu'une action spoliatrice anémiante. La transmission d'agents pathogènes explique leur rôle pathogène indirect (Perez-Eid, 2007).

Plusieurs genres de tiques appartenant à la famille des Ixodidés sont responsables de la transmission des piroplasmes chez le chien, à savoir les genres *Rhipicephalus*, *Dermacentor* et *Haemaphysalis* (Guiguen et al., 2019).

Les différentes espèces de piroplasmes sont transmises par des espèces de tiques potentiellement spécifiques (Tableau 3), notamment en fonction de leur répartition géographique.

Tableau 3 : Tique vectrice de différentes espèces parasitaires, modifié d'après Baneth (2018a)

Espèce parasitaire	Tique vectrice (potentielle et avérée)
<i>B. canis</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i>
<i>B. vogeli</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>B. rossi</i>	<i>Haemaphysalis elliptica</i> <i>Haemaphysalis leachi</i>
<i>B. gibsoni</i>	<i>Haemaphysalis longicornis</i> <i>Haemaphysalis bispinosa ?</i> <i>R.sanguineus</i>
<i>B. conradae</i>	<i>R.sanguineus ?</i>
<i>B. vulpes</i>	<i>Ixodes hexagonus ?</i> <i>R. sanguineus ?</i> <i>D. reticulatus ?</i>

b. *Rhipicephalus sanguineus*

L'espèce *R. sanguineus* est dite endophile du fait de sa capacité à se développer dans des abris, notamment les fentes des murs. Elle a été décrite pour la première fois par Latreille en 1806. C'est l'espèce la plus répandue dans le monde, présente sur tous les continents. Elle se nomme « tique du chenil » ou « tique brune du chien » car son hôte préférentiel est le chien (Cruz Vazquez et al., 1998 ; Dantas-Torres, 2010).

R. sanguineus se distingue morphologiquement par un rostre court et terminal, composé par deux chélicères et un hypostome, porté par un capitulum possédant une base hexagonale. C'est ce rostre qui pénètre les tissus de l'hôte vertébré, lors du repas sanguin de la tique (Bonnet et al., 2017).

Le cycle de *R. sanguineus* est qualifié de triphasique monotrope. C'est-à-dire qu'à chaque stade actif (larve, nymphe et adulte), la tique se nourrit une unique fois sur un individu, puis se retrouve libre dans l'environnement, avant de muer au stade suivant. Ce cycle est monotrope car les tiques parasitent des individus de la même espèce tout au long du cycle, préférentiellement le chien. Il peut se produire un cycle biphasique chez certaines tiques de *R. sanguineus* lorsque les conditions sont favorables, avec métamorphose de la larve en nymphe directement sur l'hôte, sans phase libre dans l'environnement (Uspensky & Ioffe-Uspensky, 2002).

Après éclosion des œufs, les larves, mesurant approximativement 0,5 µm (Figure 8a), recherchent passivement un hôte, en se perchent sur des herbes ou des buissons le plus souvent. Une fois sur l'hôte, elles se gorgent de sang pendant 3 à 12 jours puis s'en détachent

après le repas sanguin (Perez-Eid & Gilot, 1998). Ces larves gorgées de sang sont alors en phase « libre » dans l'environnement, et y subissent une métamorphose allant de 5 à 15 jours selon les conditions climatiques : elles se développent en nymphes, ayant une taille avoisinant 1,2 mm (Figure 8b). Ces dernières entament à leur tour une phase parasitaire sur un nouvel hôte, allant de 3 à 11 jours (Ioffe-Uspensky et al., 1997). A la fin de son repas sanguin, la tique à l'état nymphal se laisse choir, et subit ainsi une métamorphose en stade adulte, allant de 9 à 47 jours (Dantas-Torres, 2008). Les tiques mâles (Figure 8d) pouvant mesurer jusqu'à 3,2 mm, et les tiques femelles jusqu'à 11,5 mm après le repas, s'accouplent principalement sur l'hôte, notamment par le biais des phéromones produites par la tique femelle (*Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 2022*). La femelle (Figure 8c), gorgée de sang et fécondée, tombe ensuite de l'hôte, et trouve un endroit propice à l'incubation des œufs (fissures de murs, enclos canins) (Dantas-Torres, 2008). La ponte peut débuter quatre jours après avoir quitté l'hôte, et durer jusqu'à 18 jours. La femelle *R. sanguineus* peut ainsi pondre 4000 œufs en moyenne, puis meurt une fois la ponte terminée (Koch, 1982).

En moyenne, il peut se produire deux générations par an, mais cela dépend de nombreuses conditions, telles que l'hygrométrie, le nombre d'hôtes disponibles et la température (Bonnet et al., 2017). Ainsi un bon développement est possible avec un degré d'humidité de 35 à 95% et une température comprise entre 20°C et 35°C (Dantas-Torres, 2008). La durée moyenne d'un cycle est de quatre à cinq mois (*Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 2022*).

L'espèce *R. sanguineus* est cosmopolite, préférentiellement présente dans des zones de climat chaud avec des hivers doux, à savoir au niveau des régions méditerranéennes, tropicales et subtropicales (Figure 9) (Bonnet et al., 2017).

C'est l'espèce de tique la plus cosmopolite chez les canidés, avec une présence en Afrique, Europe, Amérique du Nord et du Sud et en Asie (Cruz Vazquez et al., 1998).

Au niveau européen, on remarque une présence de *R. sanguineus* particulièrement marquée au niveau du pourtour méditerranéen (Figure 9).

R. sanguineus est active tout au long de l'année dans les régions tropicales et subtropicales, et, dans les régions tempérées, plutôt de la fin du printemps au début de l'automne (Dantas-Torres, 2010).



Figure 8 : Stades morphologiques de *Rhipicephalus sanguineus*, selon Dantas-Torres (2010).
 a : état larvaire (barre : 400 µm). b : état nymphal (barre : 500 µm). c : adulte femelle (barre : 1 mm). d : adulte mâle (barre : 1 mm)

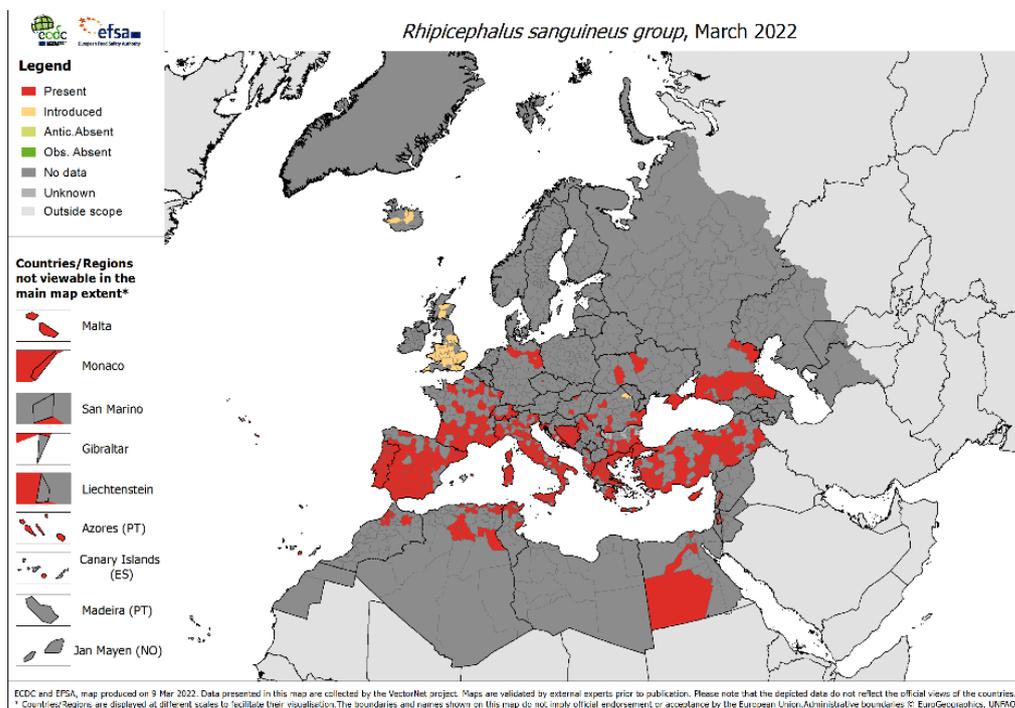


Figure 9 : Répartition de *Rhipicephalus sanguineus* en Europe en mars 2022, selon European Centre for Disease Prevention and Control (2022). Rouge : espèce observée administrativement. Jaune : espèce introduite administrativement sans établissement confirmée. Gris : aucune donnée disponible.

c. *Dermacentor reticulatus*

L'espèce *D. reticulatus* possède un cycle triphasique ditrope, les stades parasites se développant sur trois hôtes différents. En effet, les stades larvaires ayant une taille de l'ordre de 0,5 μm , et les stades nymphaux mesurant environ 1,8 μm , effectuent leur phase parasitaire sur des petits mammifères (campagnols, mulots). Le stade adulte de *D. reticulatus* (Figure 10) (mâle mesurant jusqu'à 4,8 mm, femelle jusqu'à 4,2 mm et \approx 1 cm après le repas) se développe sur de grands mammifères, les chiens préférentiellement, mais également les ongulés.

Entre chaque stade parasitaire, les tiques reviennent dans l'environnement pour y subir la métamorphose ou la ponte des œufs. Les femelles *D. reticulatus* peuvent ainsi pondre jusqu'à 7200 œufs (Földvári et al., 2016).

Il y a deux pics d'activité associés à *D. reticulatus* dans les climats continentaux : un en Mai-Juin (printemps) et un second en Septembre (automne) (Sirokó et al., 2016).

La durée d'un cycle est d'un an en moyenne, cependant avec des conditions favorables, il peut s'effectuer plusieurs générations par an. A l'inverse si les conditions sont très défavorables, un cycle complet peut durer trois ans (Bonnet et al., 2017).

Les stades larvaires et nymphaux ont une phase « libre » dite endophile, avec un développement plutôt dans des terriers, alors que le stade adulte est exophile pendant cette phase « libre », avec une présence des tiques notamment dans des prairies, terrains vagues, lisières de bois, bords de chemins et pâturages (Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 2022 ; Solano-Gallego et al., 2016).

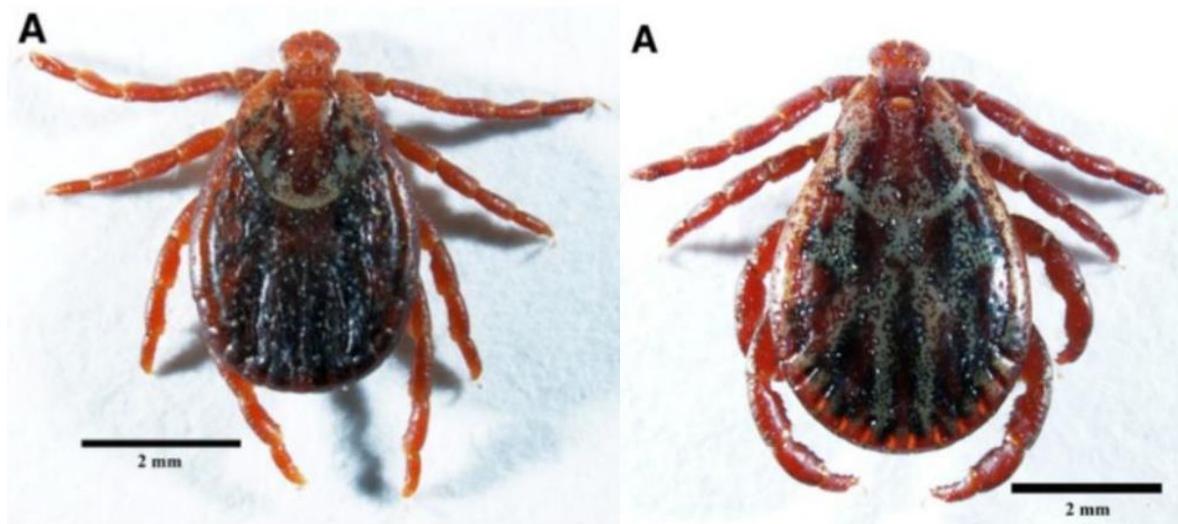


Figure 10 : Photographies de *Dermacentor reticulatus* adultes, femelle à gauche et mâle à droite, d'après Sirokó et al. (2016)

En terme de morphologie, les tiques *D. reticulatus* sont distinguables notamment par la présence d'un écusson dorsal chitineux recouvert d' « émail blanc », plus développé chez le mâle (Figure 10). La présence d'un rostre court et large permet également son identification.

On observe également des stigmates sous forme de virgule et un capitulum avec une base rectangulaire (Siroký et al., 2016).

L'espèce *D. reticulatus* est présente en Europe, avec une aire de répartition formant une bande longue et étroite partant, à l'Ouest, du Nord du Portugal et allant jusqu'en Asie centrale (Bonnet et al., 2017). Son niveau de présence le plus élevé est en Europe centrale et septentrionale, son niveau de présence le plus faible se situe dans le bassin méditerranéen (Figure 11).

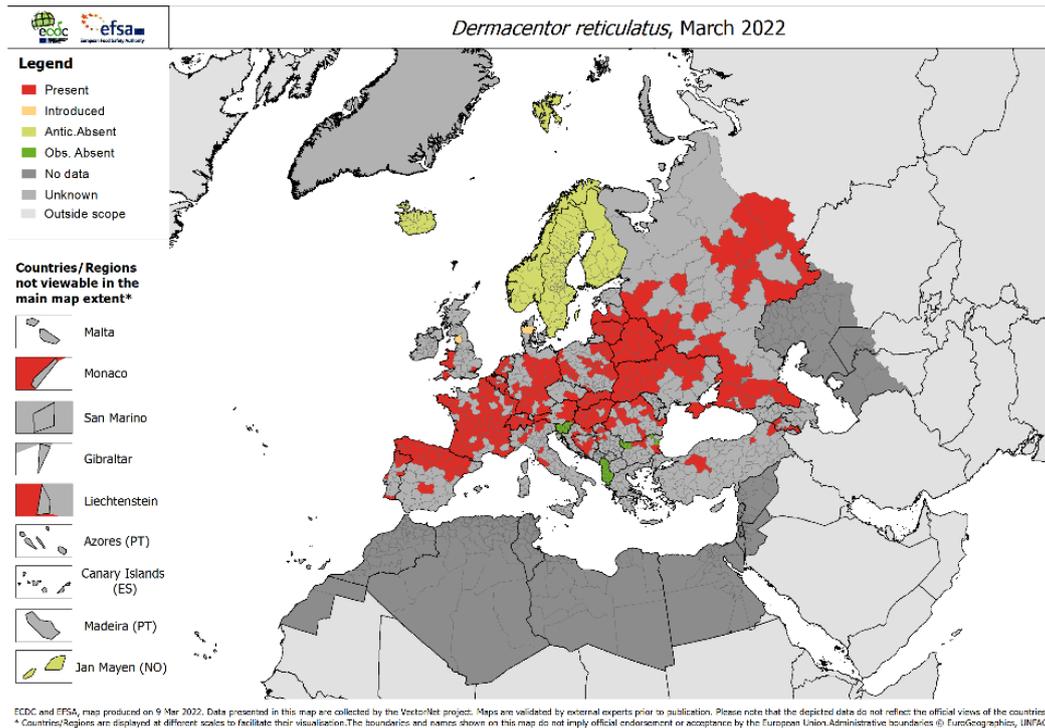


Figure 11 : Répartition de *Dermacentor reticulatus* en Europe en mars 2022, selon European Centre for Disease Prevention and Control (2022b) . Rouge : espèce observée administrativement. Jaune : espèce introduite administrativement sans établissement confirmé. Vert clair : pas de signalement et forte probabilité d'absence. Vert foncé : absence de l'espèce confirmée. Gris : aucune donnée disponible.

3. Epidémiologie

La distribution des différentes espèces responsables de la piroplasmose canine est fortement corrélée à la répartition de leurs tiques vectrices respectives.

Cependant, certains modes de transmission peuvent expliquer des cas de piroplasmose qui ne sont pas forcément associés à la présence de la tique. Par exemple, les mérozoïtes de *B. gibsoni* ont la particularité de pouvoir être transmis directement via des blessures de chiens à chiens lors d'un combat (M.-J. Lee et al., 2009 ; Yeagley et al., 2009). Cela concerne particulièrement l'American Pit Bull Terrier et le Tosa Inu, qui sont des races de chiens très prisées dans les combats illégaux de chiens (Teodorowski et al., 2022).

Une transmission directe par voie transplacentaire a également été mise en évidence dans le cas de certaines espèces de piroplasmes, à savoir *B. canis* (Mierzejewska et al., 2014), *B. vulpes* (Simões et al., 2011) et *B. gibsoni* (Fukumoto, Tamaki, et al., 2005).

La possibilité de transmission par transfusion a également été rapportée pour les espèces de *B. gibsoni* et *B. canis* (Freeman et al., 1994 ; Stegeman et al., 2003).

Ces différents modes de transmission par voie directe, verticale ou transplacentaire, ainsi que par transfusion et lors de combats, sont impliqués, avec la répartition des tiques vectrices, dans la distribution des différentes espèces de piroplasmes (Baneth, 2018a ; Solano-Gallego et al., 2016).

a. *Babesia canis*

Au niveau européen, la grande majorité des cas de babésiose canine sont causés par des piroplasmes de l'espèce *B. canis* (Radzijeuskaja et al., 2022).

L'espèce *B. canis* est principalement présente au Centre et au Nord-Est de l'Europe. Lors des vingt dernières années, il a été décrit une expansion rapide de la zone endémique de *B. canis*, allant de l'Europe centrale à la région baltique.

Ce parasite a effectivement été décrit dans de nouvelles régions endémiques, notamment en Pologne (Dwużnik-Szarek et al., 2021), Lituanie (Paulauskas et al., 2014) et Lettonie (Berzina et al., 2013). Il a aussi été décrit de façon sporadique en Asie (Iran, Chine) (Ghasemzade et al., 2021 ; J. Wang et al., 2019).

Cette extension fulgurante est fortement corrélée à l'extension de sa principale tique vectrice : *D. reticulatus* (Figure 11) (Gilot et al., 1975), qui a colonisé les régions baltiques de la Lettonie et de la Lituanie, allant même jusqu'en Asie centrale (Bonnet et al., 2017). Cela concerne surtout la frontière Nord de l'aire de répartition de *D. reticulatus* au Nord de l'Allemagne, de la Pologne et de la Lituanie, qui serait sujette à une expansion vers le Nord (Paulauskas et al., 2015).

L'expansion active de *D. reticulatus* induisant l'extension des zones endémiques de *B. canis*, serait liée aux changements environnementaux et climatiques ainsi qu'aux mouvements migratoires humains et animaux (Radzijevskaia et al., 2022).

b. *Babesia vogeli*

Ce parasite est cosmopolite du fait que sa tique vectrice, à savoir *R. sanguineus*, soit cosmopolite.

B. vogeli se trouve dans les zones endémiques pour *R. sanguineus* : le Moyen-Orient ; l'Europe (surtout au niveau du bassin méditerranéen) (Figure 9) ; L'Afrique ; l'Amérique du Sud, Centrale et du Nord ; L'Asie et l'Australie (Solano-Gallego & Baneth, 2011). Cette tique peut cependant tolérer des climats plus froids, en Europe centrale et dans les îles britanniques (Baneth, 2018a ; Solano-Gallego et al., 2016).

c. *Babesia rossi*

Ce parasite a été décrit exclusivement en Afrique du Sud, et en Afrique subsaharienne au niveau du Soudan et du Nigeria (Adamu et al., 2014 ; Oyamada et al., 2005). Les tiques responsables de sa transmission parasitaire sont *H. elliptica* et *H. leachi*.

d. *Babesia gibsoni*



Figure 12 : Répartition des infections canines à *B. gibsoni* en Europe, d'après Teodorowski et al. (2022)

De base, *B. gibsoni* est endémique dans le Sud-Est de l'Asie. Ce piroplasma a subi une expansion géographique, et a été décrit en Amérique du Nord et du Sud ; en Australie et en Europe (Figure 12) (Baneth, 2018a). En Europe le premier cas a été décrit en 2003, en Espagne (Criado-Fornelio et al., 2003), puis d'autres cas ont été décrits en Allemagne (Hartelt et al., 2007), Italie (Trotta et al., 2009), Croatie (Beck et al., 2009), Serbie (Gabrielli et al., 2015),

Slovaquie (Víchová et al., 2016), Roumanie (Andersson et al., 2017) et Pologne (Adaszek et al., 2018). Le vecteur européen avéré de *B. gibsoni* est *R. sanguineus*. En Asie, *H. longicornis* peut également être vecteur de *B. gibsoni* (Chao et al., 2017). Cependant, rappelons que la tique n'est pas seule responsable de la transmission parasitaire canine pour *B. gibsoni*, avec notamment l'existence d'une transmission de chiens à chiens lors de combat, d'une transmission verticale et par transfusion sanguine (Fukumoto et al., 2005 ; Lee et al., 2009 ; Stegeman et al., 2003 ; Yeagley et al., 2009).

Les vecteurs connus et avérés pour *B. gibsoni* sont donc *H. longicornis* (Otsuka, 1974) et *R. sanguineus* (Chao et al., 2017) ; *H. bispinosa* serait un vecteur potentiel (Tableau 3) (Baneth, 2018b ; Teodorowski et al., 2022).

e. *Babesia conradae*

Ce parasite a été isolé en Amérique du Nord, et, plus précisément, est endémique en Californie. Depuis 2006, *B. conradae* a été élevé au rang d'espèce distincte. Les coyotes seraient des hôtes réservoirs de ces parasites (Stayton et al., 2021).

La transmission parasitaire de cette espèce reste non élucidée à ce jour. *B. conradae* a été mise en évidence dans les glandes salivaires de *R. sanguineus*, cependant les connaissances actuelles ne permettent pas de savoir si la transmission se fait par tique vectrice, de façon verticale par voie transplacentaire ou alors par transfusion de produits sanguins. Les chiens ayant des contacts agressifs avec les coyotes réservoirs de *B. conradae* auraient effectivement plus de probabilité d'être infectés par cet Apicomplexe (Dear et al., 2018).

f. *Babesia vulpes*

L'espèce *B. vulpes*, anciennement nommée *T. annae* ou *B. microti-like*, est présente en Europe, en Asie (Sang et al., 2021) et en Amérique du Nord (Barash et al., 2019). Elle infecte principalement les chiens et a pour principal réservoir le renard roux (*Vulpes vulpes*). Il a été suggéré une transmission par différentes espèces de tiques, notamment par *I. hexagonus* (la tique du hérisson) (Checa et al., 2018) et/ou par *D. reticulatus* (Dwuźnik-Szarek et al., 2021), cependant aucune de preuve de transmission par les tiques n'a été identifiée à ce jour (Baneth, 2018b ; Camacho et al., 2003 ; Hodžić et al., 2017).

Sa présence en Europe a été décrite chez les chiens en Croatie (Beck et al., 2009) ; Serbie (Gabrielli et al., 2015) ; Suède (Falkenö et al., 2013) ; France (René-Martellet et al., 2015) ; péninsule ibérique (Miró et al., 2015 ; Simões et al., 2011 ; Solano-Gallego et al., 2016).

4. Physiopathologie et manifestations cliniques

Les manifestations cliniques de la babésiose canine interviennent après une phase d'incubation du parasite dans l'hôte allant de 10 à 21 jours pour *B. canis* et de 14 à 28 jours pour *B. gibsoni* (Bilić et al., 2018). Ces manifestations peuvent avoir différentes présentations, allant de l'infection chronique à l'infection aiguë, voire même suraiguë (Solano-Gallego et al., 2016).

La forme suraiguë est rare, et se caractérise surtout par la présence d'une anémie hémolytique sévère, d'un état de choc, et de lésions tissulaires importantes, pouvant causer le décès rapide de l'hôte (en moins de 24 heures).

En cas de forme aiguë, l'anémie hémolytique, l'ictère, la splénomégalie ou l'adénopathie lymphatique représentent les principales manifestations.

Une forme chronique a également été décrite, bien que moins fréquente et mal définie, souvent asymptomatique ou avec la présence d'une fièvre intermittente et d'une perte de poids progressive dans la majorité des cas décrits (Vishwakarma & Nandini, 2019). Les infections causant des formes asymptomatiques sont une véritable menace pour les zones non endémiques. Ces chiens possédant une parasitémie rarement décelable au frottis sanguin et présentant des signes cliniques très légers, ne sont pas détectés faisant d'eux des réservoirs parasitaires. De plus, ces chiens peuvent à tout moment évoluer et développer une forme clinique aiguë, notamment lors d'un affaiblissement du système immunitaire, par splénectomie ou suite à un traitement immunosuppresseur par exemple (Solano-Gallego et al., 2016 ; Vishwakarma & Nandini, 2019).

La variété des manifestations cliniques dépend de différents facteurs, dont des facteurs intrinsèques aux parasites, avec notamment le pouvoir pathogène des différentes espèces de *Babesia* ; mais également des facteurs liés à l'hôte, tels que l'âge, le statut immunitaire, les antécédents de splénectomie mais aussi la présence d'infections concomitantes (P. J. Irwin, 2009 ; Solano-Gallego & Baneth, 2011).

En effet, la virulence de l'infection est différente selon l'espèce de *Babesia* impliquée. Il a été décrit que le taux de mortalité associé à la babésiose canine pouvait aller de 1% pour *B. vogeli* à 12% pour *B. rossi*. En effet, parmi les grandes babésies, l'espèce ayant le potentiel de virulence le plus faible est *B. vogeli* pour des chiens adultes, alors que *B. rossi* est l'espèce la plus virulente. *B. vogeli* entraîne le plus souvent une infection cliniquement indétectable (subclinique) chez les chiens adultes, avec une parasitémie très faible, ce qui la rend difficilement décelable sur les frottis sanguins. Cependant chez les chiots, *B. vogeli* a plutôt tendance à induire une infection aiguë avec une anémie marquée (P. Irwin & Hutchinson, 1991). *B. rossi* est principalement à l'origine de formes cliniques suraiguës et aiguës (Schoeman, 2009). Concernant le piroplasma *B. canis*, il possède une pathogénicité variable, intermédiaire entre celle de *B. vogeli* et celle de *B. rossi* (Vishwakarma & Nandini, 2019).

Concernant les petites babésies, leur pathogénicité est modérée à sévère (P. J. Irwin, 2009 ; Solano-Gallego et al., 2016 ; Solano-Gallego & Baneth, 2011). L'espèce *B. gibsoni* est le plus souvent impliquée dans des formes cliniques aiguës, provoquant une léthargie, de la fièvre,

une anémie hémolytique, une thrombocytopénie, une lymphadénopathie, une splénomégalie. Les manifestations hyperaiguës induites par *B. gibsoni* sont relativement rares. Concernant *B. conradae*, cette espèce possède une virulence certaine et entraîne régulièrement des infections sévères qui, éventuellement, peuvent mener au décès. Le piroplasma *B. vulpes* est quant à lui le plus souvent à l'origine d'une sévère anémie et d'une insuffisance rénale (Karasová et al., 2022).

Il a également été décrit que la virulence serait exacerbée par la co-infection d'un même individu par plusieurs espèces. Les co-infections avec de multiples espèces de *Babesia* sont relativement rares, mais les hôtes présentant des co-infections avec *Babesia spp* et d'autres micro-organismes comme *Leishmania spp*, *Ehrlichia spp*, *Anaplasma spp*, *Hepatozoon spp*, *Rickettsia spp* sont plus courantes (Solano-Gallego et al., 2016).

5. Diagnostic

Le diagnostic est un élément clef de la prise en charge de la babésiose canine. En effet un diagnostic précoce et précis est un prérequis à la mise en place d'un traitement adapté et optimisera les chances de survie en assurant un bon pronostic.

Le diagnostic de certitude est fait sur la base d'éléments d'orientation ainsi que des éléments du diagnostic biologique.

Les éléments cliniques, à savoir les symptômes canins, les antécédents de transfusion sanguine, ou de splénectomie ainsi que les données épidémiologiques en lien avec la zone géographique concernée et la notion de voyage récent, orientent le diagnostic (Homer et al., 2000).

Les éléments de diagnostic biologique impliquent la mise en évidence directe du parasite ou de ses acides nucléiques, par microscopie ou approches moléculaires, et/ou la mise en évidence indirecte par sérologie notamment.

a. Diagnostic microscopique

L'observation microscopique d'un frottis sanguin a l'avantage d'être une méthode peu coûteuse, c'est la plus simple et la plus accessible pour le diagnostic. Cette méthode possède une grande spécificité, présentant peu de faux positifs. Ce fut historiquement la première méthode de détection des piroplasmes, Victor Babes en usa en 1888 pour la première identification de *Babesia spp* (Karasová et al., 2022).

Ces frottis sont le plus souvent préparés à partir de sang capillaire prélevé au niveau de l'extrémité de l'oreille ou de l'ongle de l'orteil (présentant une grande abondance parasitaire) (Böhm et al., 2006). Ils sont ensuite colorés par du Giemsa. Les parasites sont recherchés à l'intérieur d'érythrocytes. Ces derniers sont parfois eux-mêmes phagocytés par des macrophages (Figure 13) (Baneth, 2018b).

Lors de l'observation microscopique, l'observateur se fie à la taille et à la morphologie intra-érythrocytaire des piroplasmes pour déterminer si ils font partie des grandes ou des petites babésies. Cependant, le diagnostic différentiel des espèces de grandes babésies versus petites babésies ne pourra pas résulter d'une simple observation en microscopie optique. La mise en évidence des petites babésies est difficile, pour ces parasites la sensibilité de la méthode microscopique varie de faible à modérée (Miró et al., 2015). L'existence de différents stades de développement parasite, et le fait que les trophozoïtes puissent adopter une morphologie et une taille variables compliquent le diagnostic microscopique (Karasová et al., 2022).

La microscopie optique est considérée comme fiable pour une parasitémie modérée à élevée. Les chiens présentant une infection subclinique et chronique, qui ont une parasitémie faible, donnent donc lieu à une difficulté d'observation microscopique (Solano-Gallego et al., 2016). En cas de faible parasitémie, le risque principal est un résultat faussement négatif (Karasová et al., 2022). Dans le cas de l'observation microscopique d'un frottis, il a été montré que la limite de détection parasite est une parasitémie de 0,5% (Eichenberger et al., 2016).

Cette méthode d'observation microscopique est donc un outil diagnostique de première intention et, si les frottis sont négatifs, la faible sensibilité connue en particulier pour les faibles parasitémies, impliquera la réalisation d'un diagnostic moléculaire plus sensible par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) (Figure 14) (Bilić et al., 2018).

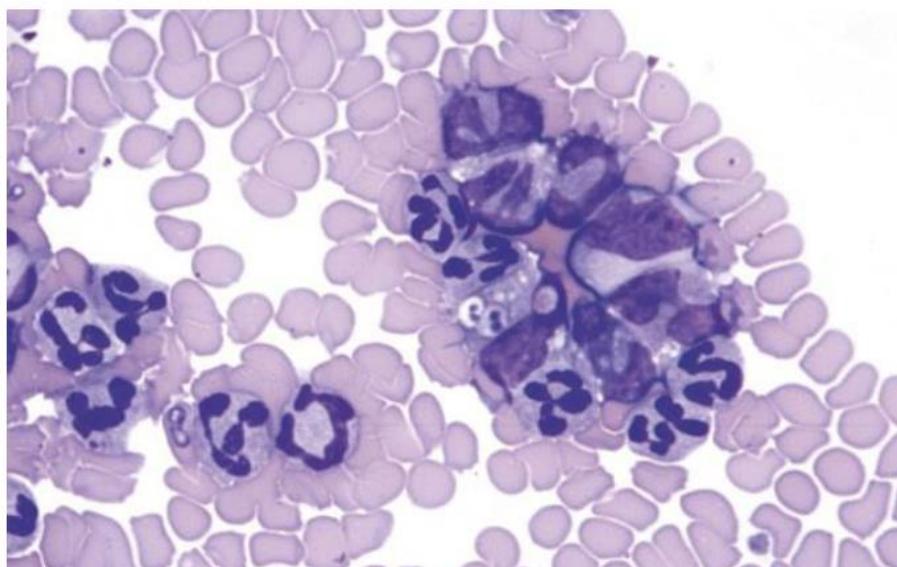


Figure 13 : Frottis sanguin coloré au Giemsa représentant des mérozoïtes de *B. vogeli* dans des érythrocytes canins libres et phagocytés, d'après Baneth (2018a)

b. Diagnostic sérologique

Les tests de diagnostic sérologique reposent sur la mise en évidence d'anticorps spécifiques d'antigènes parasitaires. Ce sont donc des méthodes de détection parasitaire indirecte. La mise en évidence d'anticorps sériques réagissant avec les antigènes parasitaires témoigne d'une infection passée ou présente, contribuant plutôt au diagnostic d'orientation. La détection des anticorps est considérée comme une méthode fiable et efficace. Cependant, ces anticorps se développent sur plusieurs jours ou semaines et disparaissent après plusieurs mois. Cette méthode de diagnostic indirect a une haute sensibilité et une spécificité modérée dans les infections chroniques et subcliniques. Les réactions croisées avec les différentes espèces de *Babesia*, et également avec les autres Apicomplexes, sont responsables de la spécificité limitée de cette méthode (Adachi et al., 1993). Des faux négatifs sont également possibles, en particulier en cas d'infection aiguë ou suraiguë ou dans les stades précoces de l'infection chronique, car les anticorps mettent entre 8 à 10 jours à se développer (Bilić et al., 2018). Cette approche peut être adaptée dans le cas du diagnostic d'infection chronique avec une parasitémie faible, ne permettant pas un diagnostic direct (Figure 14) (Karasová et al., 2022).

- **Immunofluorescence indirecte (IFI)**

C'est la méthode de sérodiagnostic la plus utilisée pour la babésiose canine (Vercammen et al., 1995). L'IFI (ou IFAT) est rapide, facile et fiable. Sa mise en œuvre repose sur la liaison antigènes parasitaires - anticorps spécifiques provenant de sérum canin. Ces complexes sont ensuite révélés par la liaison d'un anticorps secondaire anti-immunoglobuline fluorochrome (Mosqueda et al., 2012), par observation en microscopie à fluorescence, le degré de fluorescence étant donc soumis à une subjectivité. Pour *B. gibsoni*, la sensibilité de cette technique est 93,1%, et la spécificité est de 88,9% (Karasová et al., 2022).

- **La technique de dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (ELISA)**

Cette technique a pour avantage d'être simple, d'avoir une plus grande capacité, objectivité et spécificité par rapport à l'IFI. En effet, pour améliorer la spécificité, divers antigènes recombinants sont utilisés, et sont très spécifiques d'une espèce de *Babesia* donnée. Par exemple, l'antigène recombinant de mérozoïtes de *B. gibsoni* nommé rBgSA1, est hautement spécifique des infections à *B. gibsoni*, et les tests ELISA utilisant cet antigène recombinant ont montré une spécificité pouvant aller jusqu'à 97,4% (Karasová et al., 2022 ; Mandal et al., 2014). D'autres antigènes recombinants spécifiques de *B. canis* ont été mis en évidence, à savoir rBcMSA1 et rBcSA1, et sont prometteurs pour les approches ELISA et immunochromatographiques pour diagnostiquer une infection à *B. canis* (Zhou et al., 2016).

- L'immuno-chromatographie

Cet outil de diagnostic rapide permet l'obtention de résultats en une quinzaine de minutes. C'est une méthode facile, ne nécessitant pas d'instrument complexe, et la moins onéreuse des méthodes sérologiques (Eliot, 2015 ; Mandal et al., 2014).

Cette technique se base sur la mise en évidence d'anticorps dans le sérum canin, dirigés contre des antigènes spécifiques recombinants fixés sur des bandelettes de test à base de membrane de nitrocellulose (Karasová et al., 2022 ; Weigl et al., 2008).

c. Diagnostic moléculaire

Les méthodes de diagnostic moléculaire visent à mettre en évidence les acides nucléiques des piroplasmes. La PCR se base sur l'amplification d'une séquence déterminée d'acides nucléiques via l'utilisation d'amorces spécifiques.

Cette technique, hautement sensible et spécifique, permet de détecter la parasitémie plus précocement que les autres approches de diagnostic direct, immunologiques ou morphologiques. Lorsque ces dernières ne sont pas adaptées, notamment lors de la phase précoce d'infections chroniques ou lors d'infections chroniques de longue durée, quand la parasitémie est faible et que les taux d'anticorps ne sont pas détectables, le diagnostic moléculaire se révèle très pertinent (Karasová et al., 2022).

Le diagnostic par approche moléculaire a cependant un coût élevé et requiert une technicité, c'est pour cela qu'il est surtout utilisé quand la parasitémie est faible, mais également pour la différenciation des espèces parasitaires.

Un grand nombre d'approches moléculaires sont proposées, utilisant une variété de cibles génétiques parasitaires, telles que les séquences de l'ARNr 18S, de l'espaceur transcrit interne, ou les séquences mitochondriales codant pour la COX-1.

Un test PCR ciblant la séquence codante de la COX-1 a été élaboré, permettant la détection et la différenciation simultanée de *B. canis* et de *B. vogeli* dans les zones où ces espèces sont présentes en sympatrie (Annoscia et al., 2017).

Les tests de PCR en temps réel ou PCR quantitative (qPCR) permettent de détecter les piroplasmes présents dans le sang canin. Les gènes de l'ARNr 18S étaient principalement ciblés pour ce test, mais il a été décrit une meilleure sensibilité par ciblage du génome mitochondrial (Quorollo et al., 2017).

L'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) par PCR représente une autre méthode permettant la distinction des grandes espèces de *Babesia* (Carret et al., 1999).

Une autre méthode, la PCR combinée à la Reverse Line Blot Hybridization (RLB), reposant sur une hybridation des produits PCR sur une membrane possédant des sondes spécifiques des

espèces de *Babesia*, possède un intérêt dans la mise en évidence simultanée des différents piroplasmes canins.

Il a également été décrit une PCR semi-nichée, réalisée en deux étapes et utilisant deux couples d'amorces différents permettant la discrimination de l'ADN de *B. canis*, de *B. vogeli*, de *B. rossi*, et de *B. gibsoni* mais possédant une sensibilité trop faible pour *B. vulpes* (Birkenheuer et al., 2003).

La PCR quantitative par transfert d'énergie de résonance de fluorescence à courbe de fusion haute résolution a permis la différenciation de *B. gibsoni*, *B. canis*, *B. vogeli* et *B. rossi* sur la base de l'analyse de courbe de fusion (C. Wang et al., 2010).

La méthode d'amplification isotherme médiée par boucle (LAMP) permet l'amplification des acides nucléiques parasites dans des conditions isothermiques, avec des amorces spécifiques et une ADN polymérase isothermique, qui a donc pour avantage par rapport aux autres méthodes la vitesse de réalisation et la spécificité, notamment pour la détection de *B. gibsoni* (Ikadai et al., 2004).

Des faux négatifs sont possibles lors d'une babésiose chronique, ce qui est à prendre en compte pour le dépistage, notamment en cas de chiens asymptomatiques porteurs ou lors de transfusions sanguines (Figure 14) (Bilić et al., 2018).

d. Approches protéomiques

La spectrométrie de masse (MS) est une méthode d'analyse protéomique caractérisant la masse moléculaire d'un élément, permettant sa quantification et son identification, et se basant sur la formation et la détection d'ions formés par une source d'ionisation (Menet, 2011).

Une technique particulière de MS, nommée MS MALDI-TOF (Matrice Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight), se basant sur le profilage du protéome contenu dans le sérum canin, a permis la mise en évidence d'un fragment protéique (51 à 52 kDa) dans le sérum des chiens infectés par *B. canis* et qui serait absent chez les chiens sains. Cette protéine serait libérée dans le sérum du chien par le piroplasma lui-même. Dans l'étude de Dzięgiel et collaborateurs, les résultats concordaient avec ceux de la PCR effectuée en parallèle (Dzięgiel et al., 2016).

Il a notamment été décrit l'utilisation de l'électrophorèse bidimensionnelle et de la chromatographie liquide couplées à la spectrométrie de masse en tandem, qui ont permis de mettre en évidence le potentiel de l'approche protéomique dans le diagnostic de la babésiose canine, mais également dans le pronostic (Kuleš et al., 2014).

Ces méthodes protéomiques permettant la détection de biomarqueurs représentent une alternative aux méthodes moléculaires, en effet ils possèdent une bonne sensibilité et spécificité et auraient également un coût inférieur à celui des méthodes moléculaires.

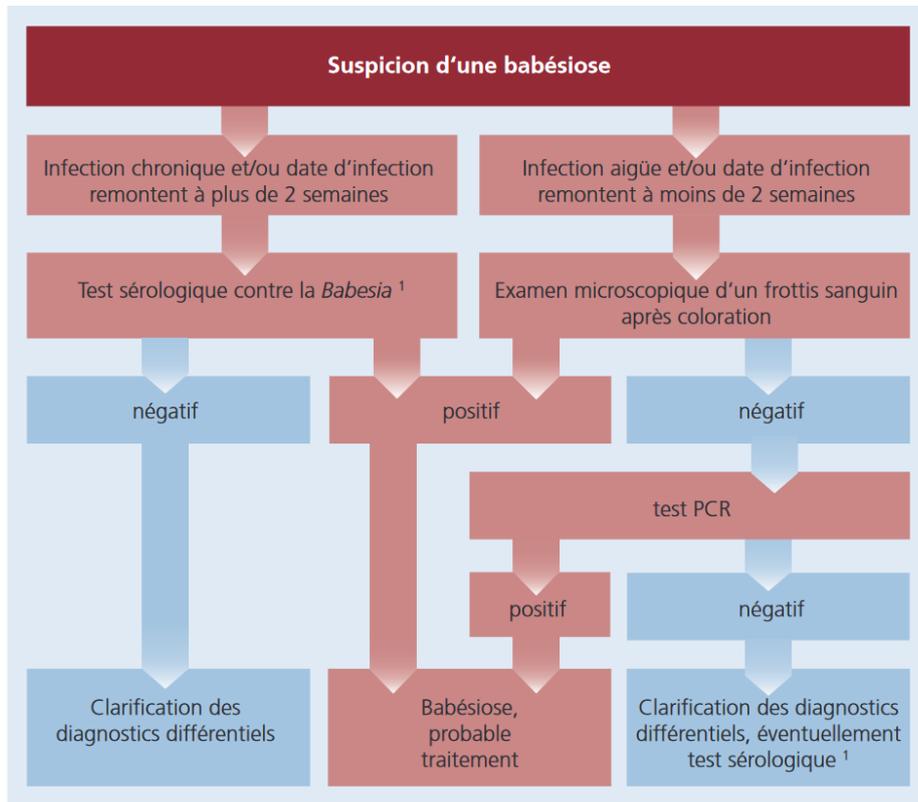


Figure 14 : Arbre décisionnel du diagnostic de la babésiose canine, recommandé par l'ESCCAP : European Scientific Counsel Companion Animal Parasites, d'après Deplazes et al. (2013)

6. Prophylaxie

Plusieurs stratégies de prévention sont décrites contre la babésiose canine.

Elles comprennent la lutte antivectorielle ciblant les tiques ; la chimioprophylaxie se focalisant sur les piroplasmes ; la vaccination, fondée sur la réaction immunitaire de l'hôte contre les piroplasmes ; mais également d'autres méthodes, tels que le dépistage systématique des chiens donneurs de sang ou le fait d'éviter les zones d'activités des tiques vectrices (Bilić et al., 2018 ; Wardrop et al., 2016).

a. Lutte antivectorielle

La lutte contre les vecteurs est la stratégie de première ligne à adopter pour réduire le risque de transmission de la babésiose canine.

Les moyens de lutte contre les vecteurs tiques seront détaillés dans la partie dédiée (partie III).

b. Chimio prophylaxie

La chimio prophylaxie est réservée aux chiens immunodéprimés (splénectomisés) des zones endémiques de babésiose canine, ayant un risque accru d'exposition aux piroplasmés.

La chimio prophylaxie est donc rarement utilisée, et la limitation de l'utilisation de cette méthode s'explique par les effets indésirables qu'elle peut provoquer. Cependant, cette méthode peut représenter une alternative intéressante, notamment dans des cas où la vaccination ou encore la lutte antivectorielle est contre-indiquée, ou bien dans les pays où la vaccination n'est pas disponible. Cette prévention chimique se concentre alors juste avant les pics d'activité au printemps ou en automne (Solano-Gallego et al., 2016).

Le dipropionate d'imidocarbe, composé dérivé du carbanilide, commercialisé sous le nom CARBESIA® en France, possède une AMM dans la prévention des babésioses canines avec l'administration d'une dose unique de 4,25 mg/kg par voie intramusculaire (IM) ou sous-cutané (SC), soit 0,5 mL pour 10 kg de poids corporel (ANSES, 2020). Cette dose préventive d'imidocarbe limiterait la sévérité de l'infection à *B. canis* si elle est effectuée au moins quelques heures avant l'inoculation parasitaire. La durée de cette protection chimique ne pourrait pas excéder quatre semaines (Vercammen et al., 1996).

Les doses préventives de dipropionate d'imidocarbe sont variables selon les recommandations spécifiques de chaque pays (ESCCAP, 2011).

c. Vaccination

Deux vaccins ont été élaborés au niveau européen contre la babésiose canine.

Le premier vaccin disponible, PIRODOG®, a été élaboré en 1985 par les laboratoires Merial (France). Il a eu le monopole de la prévention vaccinale jusqu'en 2007, avec l'arrivée du NOBIVAC PIRO® des laboratoires Intervet (Pays-Bas).

Ces vaccins ont pour objectif de limiter la sévérité de la maladie : ils ne protègent pas le chien contre l'invasion parasitaire, mais vont permettre de limiter les processus de pathogénèse des piroplasmés, et par conséquent restreindre l'intensité et la durée des signes cliniques (Bilić et al., 2018). La réponse immunitaire protectrice induite comprend une phase de réponse humorale, notamment avec la production d'anticorps, suivie d'une phase de réponse immunitaire cellulaire, avec l'implication des lymphocytes T.

La protection vaccinale des chiens contre la babésiose canine est incomplète, et présente une efficacité très variable (70 – 100%) qui est le résultat de la variabilité antigénique des différentes souches de *Babesia* (Karasová et al., 2022 ; Moreau et al., 1989).

La conception de ces vaccins utilise des antigènes parasites solubles (APS). Ce sont des antigènes externes libérés lors de l'hémolyse, qui possèdent un fort potentiel immunogène. Pour renforcer leur immunogénicité, les antigènes parasites sont associés à un adjuvant immunogène puissant, la saponine.

Le vaccin PIRODOG[®], repose sur l'utilisation des APS comme inducteurs de la réponse immunitaire protectrice. Ces APS sont issus de surnageants de culture *in vitro* de *B. canis* (Tableau 4). Ce vaccin inactivé monovalent est spécifique de l'infection homologue à *B. canis*, à l'origine de l'absence de protection croisée pour les autres souches de *B. canis* (Bilić et al., 2018 ; Vishwakarma & Nandini, 2019).

Ce vaccin a subi plusieurs ruptures successives en 2022. Le motif de ces ruptures a été établi comme étant la forte demande en vaccins pour les chiens domestiques, par rapport à la capacité de production, selon l'Agence Nationale du Médicament Vétérinaire (ANMV). La reprise de la vaccination devrait opérer au cas par cas, avec prise en compte de plusieurs facteurs : état général, contexte épidémiologique, retard de rappel (ANSES, 2022).

Pour pallier à cette problématique de spectre d'efficacité vaccinale, un vaccin bivalent a été développé. Sa conception est basée sur l'association d'APS provenant de surnageants de cultures *in vitro* d'une souche européenne de *B. canis* et sud-africaine de *B. rossi*.

Le vaccin NOBIVAC PIRO[®] induit une couverture plus large, avec une protection croisée contre les souches hétérologues européennes de *B. canis* (Tableau 4). En effet, il a été décrit que les chiens survivant à l'infection par *B. rossi*, avaient une certaine protection immunitaire envers *B. canis* (Stef, 2010). Il a été autorisé sur le marché européen par l'EMA, mais il est désormais retiré du marché au sein de l'Union Européenne (AMM retirée par son fabricant) (EMA, 2018).

Une nouvelle piste est en cours de développement pour la conception de vaccins à base d'antigènes recombinants nommés antigènes de la babésiose canine (CBA). Ces vaccins CBA pourraient remplacer à terme les vaccins utilisant les APS qui nécessitent du sang et du sérum canin pour leur élaboration (Moubri et al., 2018).

Une stratégie d'immunisation, nommée « prime-boost », est actuellement en développement, notamment pour la conception de vaccins visant à octroyer une protection immunitaire contre *B. gibsoni*. Le mode d'immunisation « prime-boost », repose sur l'utilisation de vaccins de différentes natures lors du schéma vaccinal, et serait à l'origine d'une réponse immunitaire efficace, en particulier envers les parasites intra-cellulaires. Pour l'élaboration de ces vaccins, les antigènes recombinants de l'antigène P50 et P29 issus des mérozoïtes de *B. gibsoni* ont été étudiés, respectivement rP50 et rP29. Le principe repose sur une immunisation par de l'ADN plasmidique suivie de l'immunisation par un virus de la vaccine recombinant, exprimant tous les deux le même antigène de *B. gibsoni* (rP29 ou rP50). Des études ont montré l'efficacité de l'immunisation « prime-boost » pour les infections à *B. gibsoni* chez le chien, avec notamment une réduction de la parasitémie et des signes cliniques. Cette protection immunitaire resterait cependant partielle (Fukumoto et al., 2007, 2009 ; Fukumoto, Tamaki, et al., 2005).

Tableau 4 : Tableau comparatif des principales caractéristiques du vaccin PIRODOG® selon l'European Medicines Agency (EMA) (2018) et Med'Vet (2022)

Vaccin Caractéristiques	PIRODOG®
Principe actif	APS inactivés issus de culture de <i>B. canis</i>
Adjuvant	Saponine
Indication	Immunisation active de chiens ≥ 5 mois contre <i>B. canis</i>
Voie d'administration	Sous-cutanée
Schéma vaccinal	Primo-vaccination : 2 injections à 3-4 semaines d'écart pour chiens ≥ 5 mois Rappels : annuels ou semestriels selon risques épidémiologiques
Recommandations	Vacciner que les chiens en bonne santé et vermifugés depuis au moins 10 jours avant l'injection Vacciner préférentiellement de Décembre à Janvier ou de Juillet à Aout en dehors des pics épidémiologiques Vacciner après un délai de 8 semaines minimum après un épisode de babésiose Eviter la vaccination si terrain immunodéprimé (splénectomie, MAI, traitement immunosuppresseur) Eviter un stress dans les 48 heures suivant l'injection L'injection de piroplasmicides (immunotoxiques) ne doit pas être effectuée avant la vaccination La vaccination sera moins efficace chez des chiens ayant des antécédents de babésiose La vaccination doit être associée à un traitement rigoureux anti-tiques
Cinétique	Bonne immunité 1 mois après la deuxième injection
Effets indésirables	Très rarement une légère hyperthermie, fatigue transitoire, œdème au point d'injection ; exceptionnellement une hypersensibilité
Contre-indication	Ne pas vacciner les femelles gestantes Ne pas vacciner simultanément avec d'autres vaccins sauf ceux contre la rage et la leptospirose, avec des points d'injections différents Respecter un délai de 15 jours entre l'administration d'autres vaccins et le PIRODOG®

7. Traitement

Le traitement doit être mis en œuvre le plus précocement possible après le diagnostic, afin d'optimiser les chances de survie.

La prise en charge thérapeutique d'un chien atteint de babésiose canine comprend le traitement dit « spécifique », dirigé spécifiquement contre le parasite, ainsi qu'un traitement dit « de soutien », qui est un traitement symptomatique ciblant les principaux signes, à savoir anémie, déshydratation, troubles hydroélectrolytiques et atteintes d'organes.

La détermination précise de l'espèce de *Babesia*, ou à défaut savoir si l'agent causal fait partie des grandes ou des petites babésies, est un élément incontournable de la prise en charge, du fait de la différence de sensibilité aux piroplasmicides selon l'espèce de *Babesia*. En effet, comme déjà évoqué, les grandes espèces de *Babesia* sont habituellement sensibles aux traitements antiprotozoaires, avec généralement un bon pronostic, alors que les petites espèces de *Babesia* y sont le plus souvent résistantes, nécessitant l'association de différentes molécules. Les infections dues aux petites babésies sont associées à un moins bon pronostic (Bilic et al, 2018).

a. Traitement spécifique

Diverses molécules ou associations de molécules ont été identifiées comme étant efficaces dans le traitement de la babésiose canine. Le mécanisme d'action de ces molécules babésicides est souvent obscur ou non précisément élucidé.

- Dipropionate d'imidocarbe

Le dipropionate d'imidocarbe (CARBESIA®), cité dans la partie chimioprophylaxie, est un dérivé du carbanilide faisant partie de la famille des diamidines (Figure 15). C'est la molécule de choix en cas d'infection due aux grandes espèces de *Babesia*, et en particulier en cas d'infection par *B. canis* (Bilić et al., 2018).

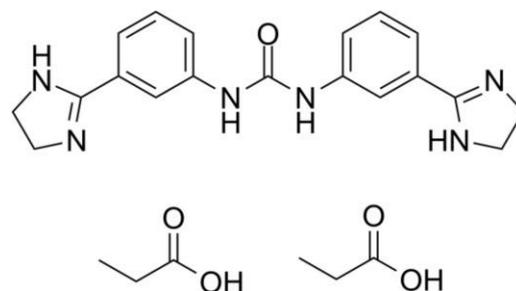


Figure 15 : Structure chimique du dipropionate d'imidocarbe, selon Al-Shaalan et al. (2022)

Le dipropionate d'imidocarbe possède une AMM chez les chiens pour la prophylaxie et pour le traitement de la babésiose canine. La dose piroplasmicide préconisée en France est de 2,125 mg d'imidocarbe par kg de poids corporel du chien, soit 0,25 mL de solution pour 10 kg de poids corporel, en une dose unique (longue demi-vie d'élimination) par voie IM ou SC (ANSES, 2020). Cette molécule provoque, dans la majorité des cas, une réduction significative des signes cliniques dans les 48 heures. Des phénomènes d'échappement du parasite au traitement, entraînant une éradication parasitaire incomplète, peuvent advenir et être à l'origine d'une rechute clinique 15 jours plus tard, nécessitant alors une seconde injection de dipropionate d'imidocarbe à J15 (Rakover, 2018).

Cette molécule est approuvée par la FDA (Food and Drug Administration) aux USA sous le nom de spécialité IMIZOL[®], pour le traitement des chiens atteints de babésiose canine (Checa et al., 2017a). La dose d'IMIZOL[®] recommandée par la FDA est de 6,6 mg par kg de poids corporel du chien (IM ou SC), avec une seconde injection systématique 15 jours plus tard (Baneth, 2018b ; Merck Animal Health, 2020).

Le dipropionate d'imidocarbe inhibe de manière réversible l'action de la cholinestérase. Bien que son mécanisme d'action babésicide reste non précisément élucidé, diverses hypothèses ont été élaborées, notamment l'inhibition de l'entrée de l'inositol dans les hématies infectées par *Babesia*, provoquant ainsi la famine du parasite (McHardy et al., 1986). Une autre hypothèse est que l'imidocarbe serait à l'origine de liaisons avec l'ADN endommageant les acides nucléiques, ce qui inhiberait la réplication cellulaire du parasite (Vishwakarma & Nandini, 2019).

Du fait de son activité anticholinestérasique, l'imidocarbe est susceptible d'entraîner un syndrome cholinergique, avec le plus souvent : excès de salivation, écoulement nasal, larmoiements oculaires, vomissements, diarrhées, tremblements, tachycardie, dyspnée, altérations rénales et hépatiques. Ce syndrome cholinergique peut être anticipé et réduit par une prémédication avec l'atropine à raison de 0,05 mg/kg (Uilenberg et al., 1981). En plus de ce syndrome, on retrouve les effets indésirables liés à l'injection, à savoir les douleurs et nodules au point d'injection (Ayoob et al., 2010).

Les effets indésirables cholinergiques de l'imidocarbe sont susceptibles d'être potentialisés par ceux des organophosphorés, pouvant alors provoquer une intoxication aux anticholinestérasiques ; il est donc déconseillé d'utiliser un traitement antivectoriel organophosphoré dans les 15 jours suivant le traitement par imidocarbe (Stef, 2010).

Cependant, l'imidocarbe n'est pas le traitement de choix pour les infections dues aux petites babésies (Tableau 5), plus difficiles à traiter.

- Acéturate de diminazène

L'acéturate de diminazène est un dérivé aromatique de la famille des diamidines (Figure 16).

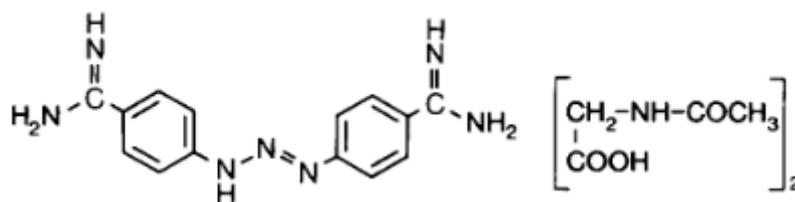


Figure 16 : Structure chimique de l'acéturate de diminazène, selon Peregrine & Mamman (1993)

Actuellement, l'utilisation de cette molécule est non approuvée dans de nombreux pays (Bilić et al., 2018). L'acéturate de diminazène n'est plus commercialisé en France depuis 1984, et n'est actuellement pas approuvé par la FDA pour le traitement étiologique de la babésiose canine. Le diminazène est principalement utilisé dans les pays tropicaux pour le traitement de première ligne de la babésiose canine à *B. gibsoni*, malgré des études émettant des doutes sur son efficacité sur cette espèce, ainsi que le risque récurrent de rechutes cliniques. C'est aussi le principal médicament antiprotozoaire utilisé en Afrique du Sud pour le traitement spécifique de l'infection canine à *B. rossi* (Tableau 5). Le diminazène serait plus efficace contre les grandes babésies, avec toutefois une efficacité fluctuante (Vishwakarma & Nandini, 2019).

La posologie recommandée dans les pays concernés est généralement une dose unique de 3,5 mg/kg de poids corporel en IM (Schoeman, 2009).

Le mécanisme d'action babésicide de cette molécule n'a pas été élucidé précisément. D'après certaines hypothèses, elle agirait en inhibant la synthèse de l'ADN parasite (Bitonti et al., 1986).

Ce médicament est relativement toxique et peut être à l'origine de graves effets indésirables. La marge thérapeutique associée au diminazène est donc très étroite, notamment en lien avec son élimination qui est très irrégulière et sa toxicité intrinsèque.

Le diminazène peut entraîner comme effet indésirable une toxicité du système nerveux central (SNC) avec dépression, ataxie, stupeur, vocalisation, nystagmus, opisthotonos et convulsion notamment (Boozer & Macintire, 2003). Ces signes toxiques nerveux peuvent être à l'origine de complications mortelles. Ils ont été décrits pour des chiens recevant du diminazène à 3,5 mg/kg IM en une dose unique (Han et al., 2014).

Parmi les effets indésirables plus fréquents, on pourra également observer aux doses thérapeutiques des signes gastro-intestinaux, tels des diarrhées ou vomissements, mais également des réactions locales au point d'injection (Baneth, 2018b).

Le développement de résistances au diminazène chez les piroplasmes canins pourrait être une des raisons expliquant les rechutes fréquentes sous ce traitement. En effet, il a été décrit des

résistances au diminazène par *Trypanosoma spp* et *Leishmania spp* (Sereno et al., 1997 ; Teka et al., 2011).

- **Atovaquone et azithromycine**

Plusieurs combinaisons thérapeutiques sont recommandées pour le traitement spécifique des petites espèces de *Babesia*, bien que l'efficacité soit moindre et les rechutes cliniques plus fréquentes.

L'atovaquone est un antiprotozoaire de la famille des hydroxynaphtoquinones (Figure 17). Il agit en inhibant sélectivement le transport d'électrons dans la membrane mitochondriale des protozoaires, bloquant ainsi la synthèse de pyrimidine et d'ATP (Adénosine Tri-Phosphate) (de Oliveira Silva et al., 2016). Des variants de *B. gibsoni* résistants à l'atovaquone seule ont été enregistrés chez des chiens à Taiwan et au Japon. Cette résistance à l'atovaquone serait due à une mutation au niveau du gène du cytochrome B, à l'origine de la modification du site de liaison de l'atovaquone par substitution d'acide aminés (méthionine en isoleucine) (Iguchi et al., 2014 ; Liu et al., 2016 ; Sakuma et al., 2009).

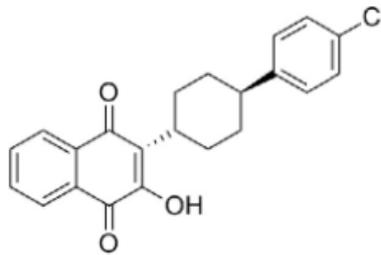


Figure 17 : Structure chimique de l'atovaquone, selon Avery et al. (2016)

L'azithromycine est un antibiotique de la famille des macrolides, inhibant la traduction de l'ARNm et la synthèse des protéines bactériennes en se fixant sur la grande sous-unité 50S du ribosome bactérien (Figure 18). L'action antiprotozoaire de l'azithromycine résulte de son activité contre les apicoplastes, organites non photosynthétiques au génome limité, retrouvés chez les Apicomplexes (Chakraborty, 2016).

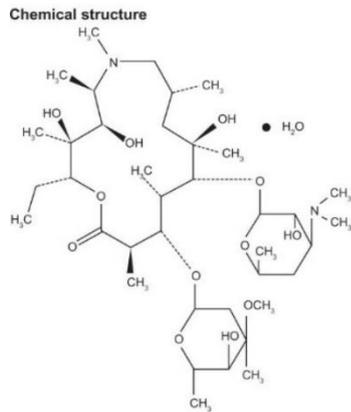


Figure 18 : Structure chimique de l'azithromycine, selon Utine (2011)

L'utilisation simultanée de l'atovaquone et de l'azithromycine possède un effet synergique sur les *Babesia* et a constitué le premier traitement efficace contre *B. gibsoni* (Tableau 5) (Birkenheuer et al., 2004).

En cas d'infections par *B. gibsoni*, *B. conradae*, et *B. vulpes*, certains auteurs recommandent l'utilisation (hors AMM) d'atovaquone à 13,3 mg/kg en per os à intervalle de 8 heures et d'azithromycine à 10 mg/kg en per os une fois par jour pendant 10 jours (Checa et al., 2017). L'atovaquone est disponible sous le nom de spécialité MEPRON® aux USA et au Canada, sous forme de suspension orale dosée à 750 mg/ 5 mL, indiquée chez l'Homme pour le traitement des pneumonies à *Pneumocystis jirovecii* chez les patient intolérants au triméthoprime-sulfaméthoxazole. La spécialité MALARONE® disponible dans de nombreux pays, sous forme de comprimés, est composée d'atovaquone 250 mg et de proguanil 100 mg pour chaque comprimé adulte. Cependant, MALARONE® doit être évitée chez le chien, car le proguanil est à l'origine de nombreux effets indésirables de type gastro-intestinaux. L'atovaquone a actuellement démontré aucun effet indésirable notable chez le chien (Baneth, 2018b).

- Buparvaquone et azithromycine

La buparvaquone est un antiprotozoaire de la famille des hydroxynaphtoquinones (Figure 19). Cette molécule, disponible sous le nom de spécialité BUTALEX®, est indiquée dans le traitement de la theilériose bovine (Wilkie et al., 1998).

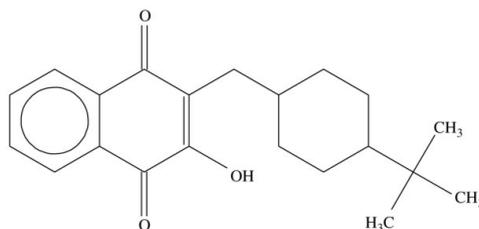


Figure 19 : Structure chimique de la buparvaquone, selon Garnier et al. (2007)

Son mécanisme d'action contre les protozoaires serait comparable à celui de l'atovaquone.

D'après la littérature, la buparvaquone pourrait être utilisée en hors AMM pour le traitement de l'infection à *B. vulpes* à raison de 5 mg/kg en IM à 48 heures d'intervalle, associée à l'azithromycine 10 mg/kg en per-os une fois par jour pendant 10 jours (Checa et al., 2017).

Des mécanismes de résistance de *Theileria annulata* (agent responsable de la theilériose bovine) contre la buparvaquone, acquise par mutation au niveau du gène du cytochrome B, ont été décrits (Mhadhbi et al., 2015).

- **Protocoles alternatifs**

Diverses stratégies médicamenteuses ont été décrites pour éradiquer les infections à *B. gibsoni* (Tableau 5) qui sont à l'origine de nombre de rechutes cliniques et d'une problématique de résistance aux médicaments.

Nombre d'autres molécules et d'associations de molécules ont été étudiées concernant leur efficacité sur la babésiose canine. Nous pouvons citer la phénamidine et la pentamidine, deux molécules antiprotozoaires, mais également des molécules antibiotiques ayant une activité antiprotozoaire intrinsèque, notamment la minocycline et la doxycycline appartenant à la famille des tétracyclines ; l'enrofloxacin qui appartient aux fluoroquinolones ; la clindamycine, une molécule lincosamide ; et le métronidazole de la famille des nitro-5-imidazolés (Belimenko et al., 2019 ; Kumara, 2016 ; Swamy et al., 2019).

De nombreuses études décrivent l'utilisation d'antibiotiques en monothérapie, c'est le cas pour la doxycycline (Vercammen et al., 1996), la clindamycine (Vishnurahav et al., 2017), ou encore l'enrofloxacin (AbouLaila et al., 2019). Cependant les résultats montrent l'absence de guérison complète dans la plupart des cas, ainsi que la présence de rechutes fréquentes (Karasová et al., 2022).

Une combinaison de trois molécules : clindamycine, le dipropionate d'imidocarbe, et l'acéturate de diminazène s'est révélée intéressante dans la prise en charge des infections à *B. gibsoni*, en particulier celles résistantes au traitement par atovaquone et azithromycine. Cette combinaison serait donc prometteuse pour la prise en charge initiale des infections à *B. gibsoni*, et celles résistantes à l'atovaquone et l'azithromycine (Lin et al., 2012). Toutefois, nous n'avons pas retrouvé d'étude récente à propos de cette combinaison.

Une autre combinaison s'est notamment révélée efficace dans le traitement de la babésiose canine à *B. gibsoni* : clindamycine 25 mg/kg de poids corporel en per-os toutes les 12 heures, métronidazole 15 mg/kg de poids corporel per-os toutes les 12 heures et doxycycline 5 mg/kg en per-os toutes les 12 heures pour une durée totale de traitement de 10 jours. Cette combinaison n'a montré aucun effet indésirable au cours des études (Kumara, 2016 ; Swamy et al., 2019).

Tableau 5 : Principales molécules et associations de molécules recommandées en cas de babésiose canine en fonction de l'espèce de *Babesia* impliquée, modifié de Baneth (2018b)

<i>Babesia spp</i>	Molécules thérapeutiques recommandées
<i>B. canis</i>	Dipropionate d'imidocarbe
<i>B. rossi</i>	Acéturate de diminazène Dipropionate d'imidocarbe
<i>B. vogeli</i>	Dipropionate d'imidocarbe
<i>B. gibsoni</i>	Atovaquone + azithromycine Clindamycine + dipropionate d'imidocarbe + acéturate de diminazène Clindamycine + métronidazole + doxycycline
<i>B. conradae</i>	Atovaquone + azithromycine
<i>B. vulpes</i>	Atovaquone + azithromycine Buparvaquone + azithromycine

L'enjeu des thérapies combinées est d'établir un traitement antiprotozoaire efficace en limitant le risque de rechute et d'apparition de résistance (Wulansari et al., 2003). Le choix de la thérapie dépend de différents facteurs : notamment la disponibilité des médicaments selon les pays, les effets indésirables, l'espèce de *Babesia* impliquée et le coût des traitements.

De nouveaux composés sont actuellement étudiés et pourraient représenter une alternative intéressante pour la prise en charge future des babésioses canines.

Une étude a notamment montré l'importante efficacité *in vitro* de certaines huiles essentielles contre *B. canis*, comme celles d'*Achillea millefolium*, d'*Eugenia caryophyllus*, et de *Coccinia grandis* parmi les huiles essentielles les plus actives (Guz et al., 2019, 2020). Certains constituants de ces huiles essentielles pourraient donc être étudiés plus en détails dans le contexte de la prise en charge de la babésiose canine.

Une étude, se focalisant sur des composés issus d'espèces de lianes tropicales d'Afrique de l'Ouest : *Triphyophyllum peltatum* (Dioncophyllaceae) et *Ancistrocladus abbreviatus* (Ancistrocladaceae), a mis en évidence l'efficacité de ces composés contre *B. canis in vitro* (Bringmann et al., 2020). Les composés actifs contre *B. canis* isolés de ces plantes tropicales sont des alcaloïdes naphthylisoquinoléines : dioncophylline A et l'ancistrocladinium B. Ces alcaloïdes représentent des agents thérapeutiques potentiels. Des études approfondies sont nécessaires pour confirmer leur intérêt et caractériser leur mode d'action, efficacité et innocuité *in vivo*.

b. Traitement symptomatique

La thérapie symptomatique vise à restaurer les lésions fonctionnelles de l'organisme, à savoir principalement : l'anémie, les lésions hépatiques et/ou rénales, les troubles immunologiques, l'état de choc et l'hypercoagulabilité. Ces soins de support sont indispensables en cas de sévérité des signes cliniques. Cependant si le chien infecté est stable et ne nécessite pas d'hospitalisation, le traitement spécifique sera privilégié. Le choix de la thérapie de soutien à employer va dépendre de l'évaluation des signes cliniques ainsi que des anomalies sanguines par le vétérinaire (Karasová et al., 2022). Les traitements symptomatiques ne sont pas développés dans ce travail qui est centré sur les parasites.

II. Dirofilariose cardio-pulmonaire canine

1. Parasite

a. Classification

La dirofilariose canine est une maladie infectieuse parasitaire, à transmission vectorielle, par des moustiques. Deux espèces en sont responsables : *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) et *Dirofilaria (Nochtiella) repens* (Railliet et Henry, 1911) (Laidoudi et al., 2019). Ces parasites helminthiques sont responsables de manifestations cliniques diverses chez le chien, à l'origine de la dirofilariose dite cardio-pulmonaire pour *D. immitis* et de la dirofilariose sous-cutanée pour *D. repens*. L'infection sous-cutanée des chiens par *D. repens* est généralement non pathogène. Cependant, cette espèce de filarioïde est souvent impliquée dans les infections zoonotiques, et représente donc un problème de santé publique. Dans cette partie, nous allons nous focaliser sur *D. immitis*, l'espèce de dirofilaire ayant le pouvoir pathogène le plus important chez le chien (ESCCAP, 2011).

Les parasites du genre *Dirofilaria* appartiennent à la classe des Nematoda, ce sont des vers ronds, fins, non segmentés, aux extrémités fines et pointues et possédant une cuticule complexe, épaisse, à base de collagène. Ce sont notamment des parasites de vertébrés terrestres, les classant au sein de l'ordre des Spirurida. Comme tous les membres de la superfamille des Filarioidea, ils sont transmis par des insectes hématophages (Basset & Sauguet, 2016 ; Pritt et al., 2012) (Tableau 6).

Les dirofilaires appartiennent au genre *Dirofilaria*, qui est divisé en deux sous-genres depuis 1937 : *Dirofilaria*, inclue les helminthes ayant un tropisme pour le système cardio-vasculaire (*D. immitis*), et *Nochtiella* qui inclue les parasites qui ont un tropisme pour les tissus sous-cutanés (*D. repens*) (Tableau 6).

Le chien est également l'hôte principal d'autres espèces de filarioïdes : *Acanthocheilonema reconditum*, *Acanthocheilonema dracunculoides*, *Cercopithifilaria grassii* (Tahir, 2017).

D. immitis est l'espèce de filarioïdes la plus décrite dans les infections canines mondiales. Elle peut également être à l'origine de zoonoses, en provoquant des nodules pulmonaires chez l'Homme (Simón et al., 2009).

Tableau 6 : Classification taxonomique des espèces de *Dirofilaria* responsables de dirofilarioses canines, selon Chabaud & Anderson (1959)

Règne	Animalia	
Classe	Nematoda	
Sous-classe	Secernentea	
Ordre	Spirurida	
Super-famille	Filarioidea	
Famille	Onchocercidae	
Sous-famille	Dirofilarinae	
Genre	<i>Dirofilaria</i>	
Sous-genre	<i>Dirofilaria</i>	<i>Nochtiella</i>
Espèce	<i>Dirofilaria immitis</i>	<i>Dirofilaria (Nochtiella) repens</i>

Une classification morphologique a été proposée sur la base des caractères morphologiques (Orihel, 1961). Cependant, plus récemment, des arbres phylogénétiques ont été proposés en se basant sur les variations génétiques de diverses séquences nucléotidiques : le gène codant pour l'ARN ribosomal 18S, le gène codant pour l'ARN ribosomal 12S, et notamment le gène mitochondrial codant pour la COX-1 (Huang et al., 2009 ; Zarei et al., 2016) (Figure 20).

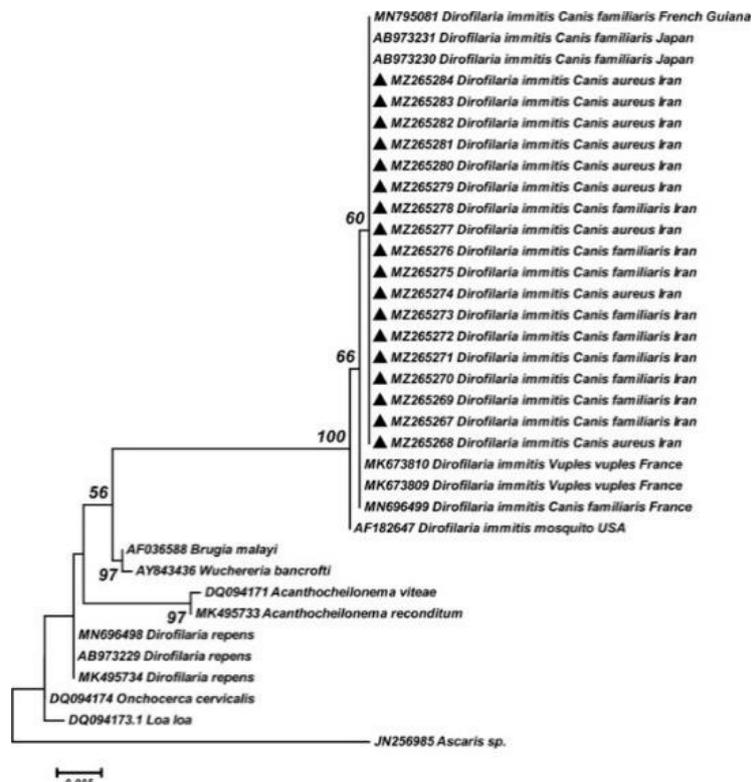


Figure 20 : Arbre phylogénétique se basant sur l'analyse moléculaire du gène codant pour l'ARN ribosomal 18S, selon Sharifdini et al. (2022)

b. Morphologie

Différents stades morphologiques de *D. immitis* se succèdent chronologiquement tout au long de sa vie parasitaire : un stade larvaire L1 ; un stade larvaire L2 ; un stade larvaire infectant L3 ; un stade larvaire L4 puis un cinquième stade final comprenant les vers juvéniles (adultes immatures) et adultes matures (Tableau 7). Ces différents stades parasitaires sont reconnaissables et différenciables grâce à leurs particularités morphologiques. Des mues interviennent entre chacun de ces stades.

Les microfilaries (environ sept μm de large), qui correspondent au stade larvaire L1, possèdent une extrémité antérieure conique et une extrémité postérieure rectiligne (Magnis et al., 2013). Elles ont également une structure de collagène bien développée recouvrant l'épiderme, nommée cuticule, comparable à celle du ver adulte.

Après ingestion des microfilaries par le vecteur, la larve se retrouve plus courte et plus forte morphologiquement, et est désignée larve « saucisse », en raison de sa forme caractéristique, au sein des cellules du tubule de Malpighi (Boreham, 2018 ; Taylor, 1960).

Tableau 7 : Taille des différents stades parasitaires de *D. immitis*, selon Boreham (2018)

Stade parasitaire	Taille (en mm)
Stade larvaire L1 - Microfilaire	0,30
Larve « saucisse »	0,15
Stade larvaire L2	0,50
Stade larvaire L3	1,20
Stade larvaire L4	1,20
Adulte femelle	250
Adulte mâle	160

D'un point de vue général, les vers adultes de *D. immitis* possèdent une cuticule blanchâtre et un aspect filiforme, allongé, avec une extrémité céphalique légèrement mince et arrondie. Ils possèdent également une ouverture buccale terminale circulaire, sans présence de lèvres, mais avec la présence de papilles céphaliques appariées au nombre de quatre, permettant d'exercer un rôle sensoriel, ainsi que de deux amphides, ayant plutôt un rôle de chimiorécepteur (Boreham, 2018 ; Furtado et al., 2010). Le tube digestif consiste en un tube droit, composé par un œsophage ainsi qu'un intestin débouchant sur le rectum. Une striation est également observable à la surface cuticulaire dans certaines régions du corps. Un anneau nerveux, structure du système nerveux, est distinguable au niveau de la partie antérieure du corps (Figure 23, flèche bleue).

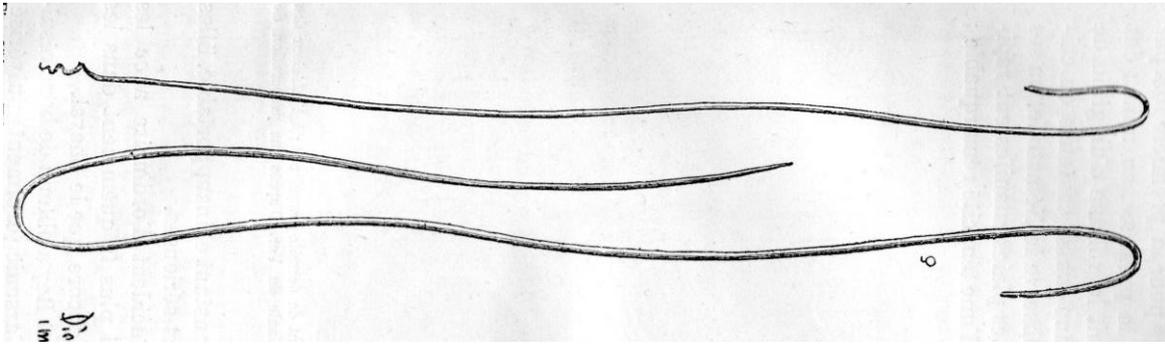


Figure 21 : Représentation de *D. immitis* adulte mâle (en haut) et adulte femelle (en bas), selon Railliet (1895)

Les vers adultes mâles sont distinguables par un enroulement caractéristique de la queue en spirale (Figure 21), apparaissant dès le début du cinquième stade. Ils mesurent ≈ 16 cm de long pour 0,8 mm de diamètre (Simón et al., 2012). Plusieurs paires de papilles pré-cloaquales et post-cloaquales sont notamment caractéristiques chez le mâle adulte, et ont un rôle sensoriel. La présence de deux spicules appariés de formes et de longueurs différentes, apparaissant dès le stade L4, permet également leur identification spécifique, d'une taille de : 325 μm et 200 μm environ au stade final (Figure 22). Ces spicules ont pour fonction l'ouverture de la vulve lors de la copulation. L'appareil reproducteur du ver adulte mâle est constitué par un testicule, relié par un tube à la vésicule séminale qui débouche dans le cloaque par l'intermédiaire du canal déférent (Boreham, 2018 ; Prot, 1984).

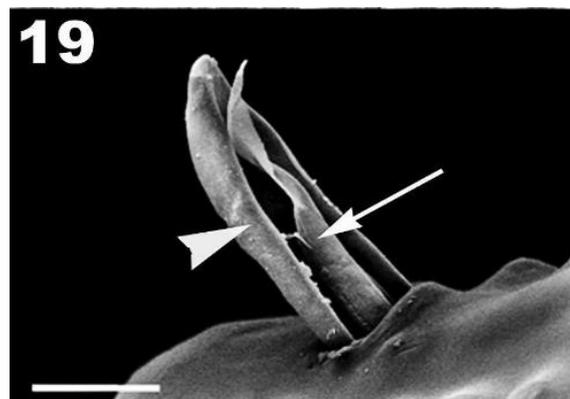


Figure 22 : Grand (flèche) et petit (tête de flèche) spicule de *D. immitis* au microscope électronique (barre : 30 μm), selon Furtado et al. (2010)

Concernant le vers adulte femelle, sa taille est de l'ordre de 25 cm de long pour $\approx 1,2$ mm de diamètre (Simón et al., 2012). En plus du critère de taille, la position et la structure de la vulve (Figure 23, flèche noire) permettent l'identification de son stade de vie parasitaire ainsi que de son âge. La vulve est en position post-œsophagienne dès le début du cinquième stade. La différenciation des structures reproductives mâles et femelles, initiée avant la troisième mue, permet la caractérisation du stade et de l'âge parasitaire de *D. immitis*. L'appareil génital de l'adulte femelle est composée de deux ovaires, reliés aux utérus par les oviductes, formant ensuite le vagin qui se termine ensuite par la vulve (Orihel, 1961 ; Prot, 1984).

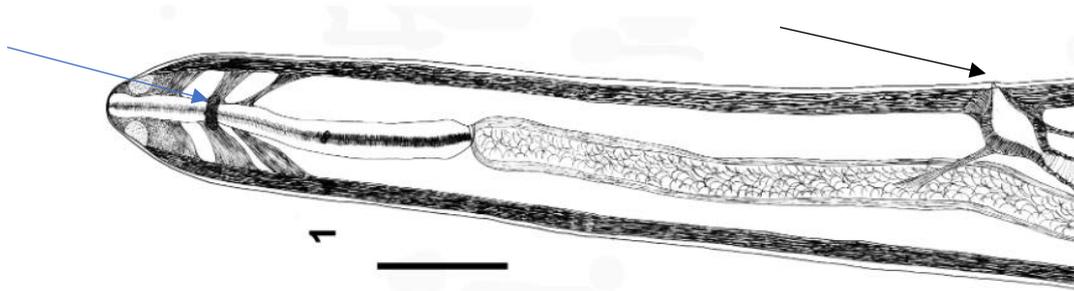


Figure 23 : Extrémité antérieure d'une femelle de *D. immitis* avec l'ouverture vulvaire (flèche noire) et l'anneau nerveux (flèche bleue) (barre : 200 μ m), selon Furtado et al. (2010)

c. Cycle évolutif

D. immitis présente un cycle dixène, effectuant sa reproduction sexuée chez un hôte définitif vertébré, avec la présence d'un hôte intermédiaire essentiel au développement larvaire.

Parmi les hôtes définitifs, on retrouve plus particulièrement les canidés domestiques avec les chiens domestiques ainsi que les canidés sauvages, tels que les coyotes, les renards, les loups. Ces hôtes hébergent la reproduction sexuée de *D. immitis*, et représentent les principaux réservoirs parasites. D'autres mammifères peuvent être hôtes définitifs principalement dans les régions hautement endémiques, même si la microfilarémie reste rare : les chats, les furets, les lions de mer de Californie, les chevaux, les castors. Ces hôtes sont moins appropriés pour *D. immitis*, mais peuvent représenter de potentiels réservoirs parasites en portant des microfilaries dans leur sang périphérique (Adebayo et al., 2020 ; A. C. Y. Lee et al., 2010 ; Simón et al., 2012).

Dans de rares cas, *D. immitis* peut également infecter l'Homme, cependant le cycle évolutif parasite sera incomplet, le parasite n'atteignant pas le stade adulte. L'Homme est donc un hôte accidentel. En cas de zoonose, les larves de *D. immitis* auront la capacité de se retrouver au niveau des branches de l'artère pulmonaire humaine, où elles seront détruites par la réponse inflammatoire, laissant dans certains cas des nodules pulmonaires (Adebayo et al., 2020 ; A. C. Y. Lee et al., 2010 ; Université de Liège, 2010).

Les hôtes intermédiaires de *D. immitis* sont des arthropodes hématophages, et plus précisément des moustiques, appartenant à la famille des Culicidae, avec notamment les genres *Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, *Mansonia* (Université de Liège, 2010).

- Développement parasitaire chez l'hôte invertébré

La femelle moustique, hématophage, ingère des microfilaires lors de son repas sanguin pris sur un chien microfilarémique (Figure 24) (Boreham, 2018).

Les microfilaires de *D. immitis* se retrouvent dans l'intestin moyen du moustique, pour une durée d'approximativement 24 heures. Elles migrent ensuite au sein des cellules des tubules de Malpighi, où elles acquièrent une morphologie particulière, plus trapue, correspondant au stade caractéristique nommé « stade saucisse » (Taylor, 1960).

Les larves restent six ou sept jours dans les cellules des tubules de Malpighi, puis ces larves « saucisses » quittent ces cellules et migrent pour se localiser dans la lumière des tubules de Malpighi. La première mue se déroule approximativement 10 jours après l'infection du moustique. Les larves L1 évoluent ainsi au stade L2. Puis environ deux ou trois jours après cette première mue parasitaire, une deuxième mue se produit, donnant lieu au stade L3. Lors de chaque mue, une nouvelle cuticule se développe (Luck et al., 2014). Les larves L3 peuvent percer l'extrémité distale des tubules de Malpighi, et entamer une migration en passant par l'hémolymphe en direction des pièces buccales et des espaces céphaliques du moustique. À ce niveau, ces larves sont devenues infectantes (McCall et al., 2008).

Le développement larvaire de *D. immitis* est pathogène pour le moustique hôte intermédiaire, et peut entraîner la mort de ce dernier, en particulier lors de la migration des vers en direction de la tête du moustique (Boreham, 2018).

Le temps de développement des larves de *D. immitis* en stade L3 infectant est variable chez le moustique. Il dépend de facteurs extérieurs, tels que la température ou l'humidité relative. Il a été décrit qu'à 27 °C, le développement en stade larvaire L3 infectant oscillait entre 10 à 14 jours, alors qu'à 18 °C il prenait environ un mois. De plus, en dessous de la température limite de 14 °C, le développement larvaire est interrompu (Ledesma & Harrington, 2011 ; McCall et al., 2008).

Des facteurs intrinsèques au moustique ont également une influence sur ce temps de développement larvaire, à savoir l'anatomie de l'intestin du moustique, la réponse immunitaire du moustique envers les larves parasites, et notamment l'activité des protéines anticoagulantes contenues dans la salive du moustique. Ces facteurs intrinsèques sont liés aux particularités génétiques des différentes espèces et souches de moustiques impliquées (Ledesma & Harrington, 2011).

- Développement parasitaire chez l'hôte vertébré

La période de développement chez l'hôte définitif est relativement longue : elle peut s'étendre de six à neuf mois (Simón et al., 2012).

Lors du repas sanguin, des larves L3 infectantes de *D. immitis* sortent généralement de l'extrémité du labelle du moustique vecteur infecté, puis se retrouvent au sein d'une goutte d'hémolymphe sur la peau du chien, à proximité du site du repas sanguin. En moyenne, une dizaine de larves vont pouvoir infecter l'hôte canin lors d'un unique repas sanguin (Miron, 2016). L'hémolymphe dans laquelle baignent les larves permet de les maintenir dans un milieu humide, et facilite notamment leur déplacement à la surface de la peau du chien. En effet, ces larves se déplacent activement sur la peau du chien afin d'utiliser la blessure de ponction consécutive au repas sanguin comme porte d'entrée dans l'hôte canin (Ledesma & Harrington, 2011).

Environ trois jours après l'infection du chien, la plupart des larves L3 infectantes se trouvent au niveau du tissu conjonctif sous-cutané, à proximité du site d'entrée. La troisième mue a lieu entre le troisième et le douzième jour post-infection, et donne naissance aux larves L4 (McCall et al., 2008).

Après les 20 premiers jours d'infection canine, la majorité des larves sont observées au niveau de l'abdomen, et après les 40 premiers jours, elles peuvent être observées dans le thorax et/ou l'abdomen du chien (Boreham, 2018).

La dernière mue, permettant le passage du stade L4 au stade adulte immature L5 (pré-adulte), a lieu entre le cinquantième et le soixante-dixième jour post-infection canine. Les larves L5 adultes immatures se retrouvent notamment au niveau du cou, de la tête, des membre antérieurs. Une fois dans ces régions, les adultes juvéniles peuvent atteindre la circulation sanguine via des veines, comme la veine jugulaire par exemple, leur permettant ainsi d'atteindre les artères pulmonaires, en passant via le cœur droit (Boreham, 2018 ; Université de Liège, 2010).

Les premiers vers adultes juvéniles atteignent les artères pulmonaires approximativement à partir du quatre-vingtième jour post-infection. Ces vers mesurent entre deux et cinq centimètres, puis à partir de ce stade, leur longueur va se décupler. Ils resteront environ sept semaines au sein des artères pulmonaires, avant d'entamer une migration rétrograde en direction du ventricule droit, où ils subiront une maturation finale en vers adultes et se reproduiront (Beugnet et al., 2021c). Les vers seront localisés uniquement au niveau du cœur et des artères pulmonaires à partir du quatre-vingt-dixième jour environ après l'infection. Les vers seront sexuellement matures environ 120 jours après l'infection canine (Orihel, 1961). Ces vers adultes matures sont ainsi distinguables chez le chien principalement au niveau des artères pulmonaires, et lorsque la charge parasitaire est importante, au niveau de l'atrium droit, du ventricule droit et au niveau de la veine cave notamment. Dans certains cas plus rares, les vers adultes peuvent se trouver au niveau de l'œil, du cerveau, ou des poumons (Adebayo et al., 2020). La durée de vie des vers adultes de *D. immitis* est d'environ sept ans (Miron, 2016).

La période pré-patente de *D. immitis* peut aller de six à neuf mois, c'est à dire que les femelles vivipares vont pouvoir relarguer les premières microfilaires dans la circulation sanguine six à neuf mois après l'infection canine. Les périodes pré-patentes des vers appartenant au genre *Dirofilaria* sont généralement longues, en comparaison aux autres genres de filarioïdes (Orihel, 1961).

Chez l'hôte définitif, les microfilaires se localisent principalement dans la circulation périphérique, mais peuvent également se retrouver au sein d'organes comme les poumons. Elles ont la capacité notamment d'infecter les chiots par transmission verticale, en traversant le placenta par migration extravasculaire. Leur espérance de vie moyenne est d'environ deux ans (Miron, 2016).

Le rôle des bactéries du genre *Wolbachia* est un élément indispensable à prendre en compte dans le cycle évolutif de *D. immitis*. Ces bactéries, qui ont été décrites comme vivant en symbiose avec l'helminthe, ont été mises en évidence dans l'ensemble des stades évolutifs de *D. immitis*. Elles seraient impliquées dans les différentes mues parasitaires, participeraient au processus d'embryogenèse, permettraient la survie, la reproduction ainsi que le développement du parasite en particulier chez l'hôte définitif. De son côté, *D. immitis* permettrait à ces bactéries un approvisionnement en acides aminés (Luck et al., 2014 ; Simón et al., 2012 ; Villeneuve, 2014).

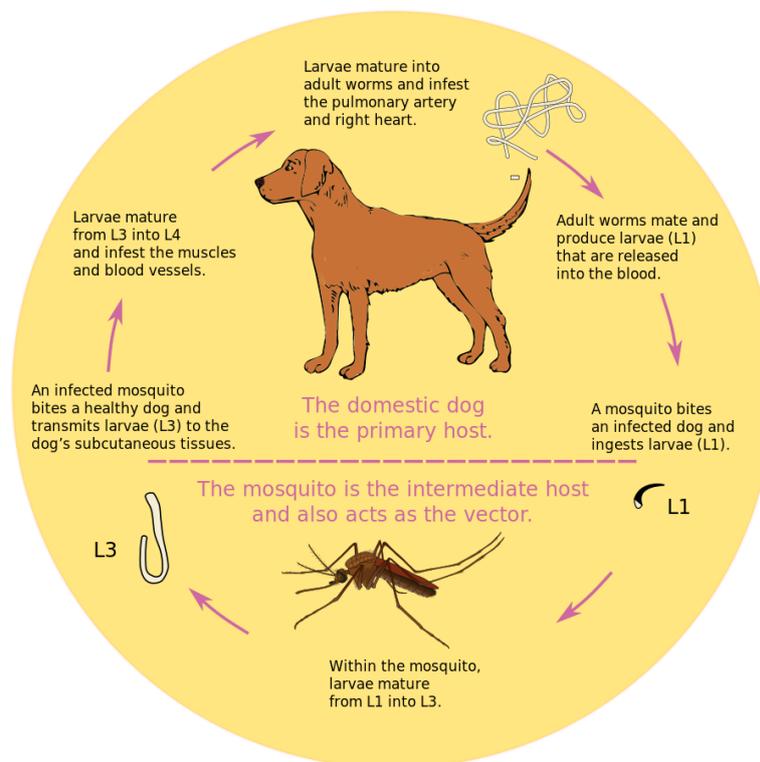


Figure 24 : Représentation du cycle de vie de *D. immitis* chez le chien, selon Friedrich (2013)

2. Hôtes vecteurs

a. Classification

Seuls des arthropodes hématophages de la famille des Culicidae peuvent être hôtes intermédiaires vecteurs de *D. immitis* (Tableau 8). Les membres de cette famille sont vulgairement nommés moustiques ou maringouins. Cette famille représente un large clade du monde vivant, réunissant plus de 3600 espèces identifiées (Foster & Walker, 2019). Ces moustiques sont cosmopolites, seuls l'Antarctique et quelques îles isolées en étant dépourvus (Barré-Cardi, 2014).

Les moustiques, caractérisés par leur corps segmenté à l'âge adulte, appartiennent à l'embranchement des Euarthropodes.

La présence d'appendices chitinisés, à savoir les mandibules et les maxilles, classe les moustiques au sein du sous-embranchement des Mandibulates.

Les insectes, également désignés ectognathes, possèdent des pièces buccales constamment localisées en position externe, c'est-à-dire en dehors de la capsule céphalique. Parmi ces pièces se trouvent les mandibules, les maxilles, ainsi qu'une lèvre inférieure nommée labium. Ces insectes se caractérisent également par la présence de trois paires de pattes au niveau du thorax, lui-même divisé en trois parties distinctes, ainsi que d'un abdomen possédant un maximum de 11 segments (Beugnet et al., 2021a).

Les moustiques possèdent des ailes membraneuses, expansions cuticulaires formées de deux couches d'épiderme, dans lesquelles se trouvent un réseau veineux formant des nervures. Ces veines contiennent plusieurs éléments, à savoir de l'hémolymphe, des trachées ainsi que des nerfs. La présence de ces ailes est caractéristique de la sous-classe des Ptérygotes. Les différents schémas de nervation des ailes sont des éléments de détermination de l'espèce de moustiques.

Les moustiques possèdent une seule paire d'ailes membraneuses, ce qui permet de les catégoriser au sein de l'ordre des Diptères. Des « haltères » ayant un rôle de balanciers indispensables pour l'équilibre lors du vol, sont présents et sont des vestiges anatomiques de la seconde paire d'ailes membraneuses. Les Culicidés présentent un dimorphisme sexuel marqué au niveau des antennes, les catégorisant au sein des Nématocères (Lecointre & Le Guyader, 2017).

La famille des Culicidae se caractérise par la présence d'écailles recouvrant leur corps, par la présence d'un long rostre composé de pièces buccales allongées spécialisées, ainsi que par la présence de longues et fines pattes (Saari et al., 2019).

Même si les moustiques se répartissent dans l'ensemble des régions tempérées et tropicales, ils sont cependant nettement plus diversifiés au niveau des forêts tropicales.

La classification actuelle admet la présence de deux sous-familles au sein des Culicidae : les Culicinae et Anophelinae. La sous-famille des Culicinae est divisée en 11 tribus. Actuellement,

environ 3600 espèces de moustiques ont été identifiées, et sont réparties au sein de 41 genres, dont 38 appartiennent à la sous-famille des *Culicinae* (Rueda & Debboun, 2020).

Toutes les espèces de moustiques ne possèdent pas le pouvoir de vectorisation. Un peu plus d'une centaine d'espèces de moustiques sont capables de transmettre des agents pathogènes aux mammifères vertébrés.

Des études ont principalement identifié les genres *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*, *Ochlerotatus*, *Mansonia*, *Psorophora*, *Armigeres*, *Coquillettidia*, et *Culiseta* comme étant responsables de la transmission de la maladie des vers du cœur chez les chiens (Foster & Walker, 2019 ; Younes et al., 2021). Environ 70 espèces ont été identifiées comme pouvant être vectrices de *D. immitis* (Morchón et al., 2012). Ces espèces varient selon la localisation géographique (Knight, 1987). D'une manière générale, les espèces impliquées ne sont pas complètement élucidées.

Tableau 8 : Classification taxonomique des Culicidés, modifiée selon Barré-Cardi (2014)

Règne	Animalia	
Embranchement	Arthropoda	
Sous-embranchement	Mandibulata	
Classe	Insecta	
Sous-classe	Pterygota	
Super-ordre	Holometabola	
Ordre	Diptera	
Sous-ordre	Nematocera	
Famille	Culicidae	
Sous-famille	Culicinae	Anophelinae
Genres	<i>Aedes</i> , <i>Culex</i> , <i>Ochlerotatus</i> , <i>Mansonia</i> , <i>Psorophora</i> , <i>Armigeres</i> , <i>Coquillettidia</i> , <i>Culiseta</i> ...	<i>Anopheles</i> , <i>Chagasia</i> , <i>Bironella</i>

b. Cycle évolutif

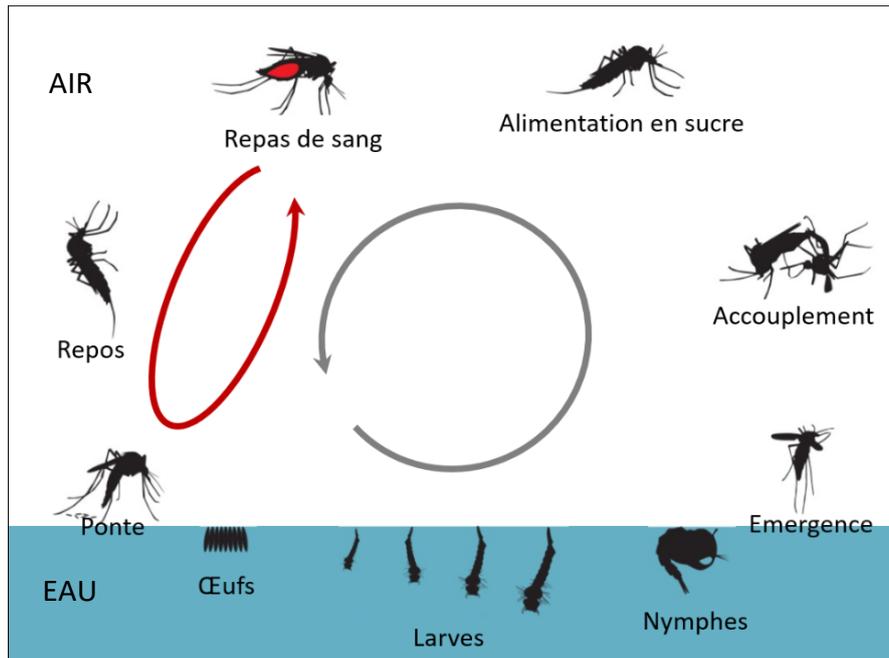


Figure 25 : Cycle de vie des Culicidés, modifiée selon Rakotonirina (2021). La flèche grise représente le cycle de développement des moustiques, la flèche rouge représente le cycle gonotrophique pour la femelle.

Les Culicidés possèdent un développement holométabolique, se caractérisant par quatre stades de vie distincts séparés par des mues successives : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago (l'adulte) (Rueda & Debboun, 2020).

Les œufs, larves et nymphes sont les stades aquatiques du développement du moustique, seul l'imago ayant un développement aérien (Figure 25).

• Phase aquatique

Les milieux aquatiques dans lesquels peuvent se développer les différents stades immatures des moustiques sont diversifiés. Ils comprennent les eaux de surface temporaires (bassins de marées, bassins de pluie), les eaux de surface permanentes (marécages, bords lacs, étangs, mares, cours d'eau), les récipients naturels (trous d'arbre, creux de feuilles, coquilles de mollusques) ou artificiels (pneus, vases, bouteilles, canettes), ainsi que les eaux souterraines. Ces habitats sont surtout constitués de systèmes d'eau stagnante, même si les stades aquatiques peuvent se trouver au niveau de certains cours d'eau à faible débit (Wallace, 2009).

Les moustiques femelles pondent leurs œufs dans des milieux aquatiques différents selon l'espèce de Culicidé. Ainsi, certaines femelles, par exemple du sous-genre *Anophelinae*, pondent leurs œufs individuellement à la surface de l'eau. D'autres, notamment celles des

genres *Coquillettidia*, *Culex* et *Culiseta*, pondent leurs œufs en groupes formant des radeaux à la surface de l'eau (pouvant aller jusqu'à 200 œufs), tandis que d'autres encore, comme celles du genre *Mansonia*, les pondent sous la surface de l'eau, en les fixant à la végétation. Enfin, les femelles des genres *Ochlerotatus* et *Aedes* pondent leurs œufs sur des substrats solides humides susceptibles d'être immergés.

Les œufs sont de forme ovale allongée, mesurent environ un mm de longueur, sont de couleur blanche dès la ponte, puis noircissent en quelques heures (Rueda & Debboun, 2020).

Les œufs éclosent deux à trois jours après la ponte, dès que le développement embryonnaire est effectué, dans les milieux aux conditions favorables. Concernant les œufs pondus sur un substrat solide, ils doivent d'abord être immergés avant d'avoir la capacité d'éclore. Ces œufs peuvent donc rester quiescents plusieurs mois voire plusieurs années après la fin du développement embryonnaire (Foster & Walker, 2019).

Le stade larvaire succède à l'œuf. Les larves possèdent quatre stades de développement séparés par des mues successives. La larve de premier stade mesure approximativement deux mm, alors que celle de dernier stade dépasse généralement 10 mm (Barré-Cardi, 2014). La plupart des larves de Culicinae sont suspendues vers le bas à la surface de l'eau. Pour permettre la respiration, leur extrémité abdominale possède un siphon qui débouche juste au-dessus de la surface de l'eau. Ces larves se nourrissent d'éléments présents sous la surface, elles nagent donc verticalement, et reviennent à la surface pour respirer. Les larves de *Mansonia*, qui vivent immergées sous l'eau, s'approvisionnent en oxygène en liant leur siphon aux plantes aquatiques dont elles prennent l'oxygène. Ces larves sont très peu mobiles. Quant aux larves d'*Anopheles*, elles se positionnent parallèlement à la surface de l'eau, s'approvisionnant alors directement en oxygène sans passer par un siphon respiratoire. Ces larves se déplacent horizontalement pour se nourrir.

Les larves se nourrissent de divers éléments, principalement des déchets organiques en décomposition ainsi que des micro-organismes (bactéries, champignons, protistes).

La durée du développement larvaire dépend des conditions environnementales de l'habitat larvaire, en particulier de la température, ainsi que de l'espèce de moustique. Elle peut varier de quelques jours à plusieurs mois (Duvallet & Chabasse, 2020).

Le stade nymphal succède à la larve de quatrième stade après une mue. C'est un stade de courte durée, n'excédant que très rarement 48 heures. La nymphe ne se nourrit pas, elle se localise principalement à la surface de l'eau, et respire par l'intermédiaire de trompettes respiratoires au niveau du thorax (Foster & Walker, 2019).

- Phase aérienne

L'imago, d'une longueur allant jusqu'à 15 mm, émerge ensuite de la nymphe. L'ensemble du cycle de développement du moustique (Figure 25, flèche grise) peut durer une dizaine de jours en cas de bonnes conditions environnementales. Cependant, si le climat n'est pas favorable (température, jours de courte durée), les moustiques peuvent entrer dans un état de « diapause » pendant plusieurs mois. Les mâles adultes émergent généralement avant les femelles. Une fois émergés, les moustiques adultes mâles et femelles se nourrissent de sucres végétaux, via des nectars ou des miellats, faisant des moustiques des pollinisateurs non négligeables de certaines plantes. Ce repas leur confère l'énergie indispensable à la maturation sexuelle, à la réalisation des déplacements donnant lieu à l'accouplement, et enfin, pour les femelles, à la recherche active d'hôtes vertébrés. Les moustiques mâles et femelles ne s'accouplent généralement qu'une unique fois. Seules les femelles adultes sont hématophages, le sang des hôtes vertébrés leur permet de s'approvisionner en acides aminés qui seront indispensables à la poursuite du développement des œufs et joueront le rôle de source d'énergie pour les déplacements de la femelle. Après le repas sanguin, les femelles se localisent au niveau de sites de repos (lieux abrités) pour la digestion et le développement des œufs (Cleenewerck & Frimat, 2004).

Cependant, certaines femelles d'espèces dites autogènes, n'ont pas obligatoirement besoin de repas sanguins pour compléter la maturation de leurs œufs et assurer leur survie. A l'inverse, les femelles anautogènes peuvent pondre plusieurs générations d'œufs, et peuvent donc ainsi effectuer plusieurs repas sanguins pour leurs développements. Ces cycles, allant du repas sanguin à la ponte des œufs matures, sont nommés cycles gonotrophiques (Figure 25, flèche rouge). Certaines femelles effectuent plusieurs repas de sang au cours d'un cycle gonotrophique. Le nombre de ces cycles varie selon différents facteurs, comme la température et la disponibilité des hôtes vertébrés par exemple. En moyenne, une femelle anautogène peut effectuer jusqu'à cinq cycles gonotrophiques de 150 œufs par ponte, en cas de conditions favorables. C'est par la multiplicité des cycles gonotrophiques que les femelles hématophages sont impliquées dans la transmission d'agents pathogènes (Foster & Walker, 2019).

Les hôtes vertébrés ciblés par les moustiques sont divers : mammifères, oiseaux, reptiles et batraciens. De plus, les différentes espèces de moustiques anautogènes possèdent leurs propres préférences d'hôtes vertébrés. Les Culicidés détectent leurs hôtes préférentiels via des molécules volatiles odorantes qui les attirent, à savoir le dioxyde de carbone, l'octénol, l'acide lactique, ainsi que les acides gras produits par le microbiote cutané notamment. La chaleur, l'humidité, les stimuli visuels sont d'autres facteurs également impliqués dans la détection de l'hôte vertébré (Hillary & Ceasar, 2021, p. 7).

c. Comportement

Les différentes espèces de moustiques possèdent un rythme endogène circadien spécifique, régulant ainsi leurs périodes d'activités (alimentation, accouplement, ponte) et de repos en fonction du cycle jour-nuit (Cleenewerck & Frimat, 2004). Les périodes de vols se produisent par cycles de 24 heures, au même moment de la journée, de façon crépusculaire, nocturne ou diurne. Le rythme endogène explique donc pourquoi les moustiques piquent préférentiellement à certains moments de la journée selon l'espèce.

Par exemple, certaines espèces seront plutôt actives la nuit (*Culex pipiens*, *Anopheles spp*), et d'autres seront plutôt diurnes ou crépusculaires (*Aedes albopictus* piquant à l'aube et au crépuscule) (Rueda & Debboun, 2020, p. 1).

Les moustiques sont actifs tout au long de l'année au niveau des régions tropicales et subtropicales, alors que leur période d'activité se limite plutôt au printemps et à l'été au niveau des régions tempérées d'Europe (Morchón et al., 2012).

d. Repas sanguin

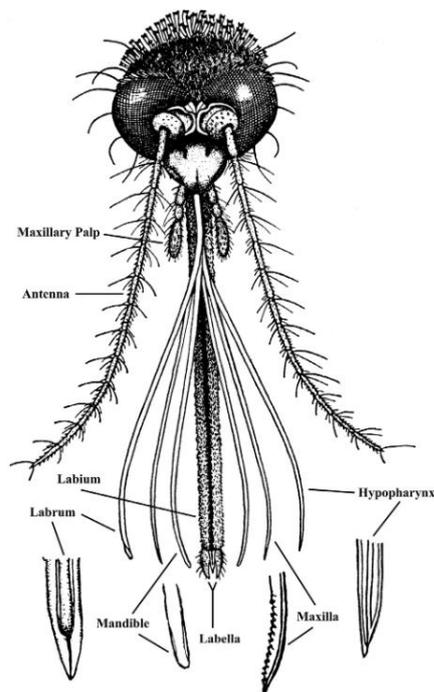


Figure 26 : Représentation des pièces buccales d'une femelle Culicidé, selon Matheson (1944)

Une fois la femelle hématophage posée sur son hôte, elle réalise le repas sanguin en quatre phases. Tout d'abord, elle explore le milieu, pour déterminer s'il s'agit bien de son hôte préférentiel. Si c'est le cas, la phase de pénétration de la peau de l'hôte et de recherche de vaisseaux sanguins se réalise, puis la phase d'ingestion de sang intervient avant que la femelle ne quitte l'hôte lors de la phase de retrait.

La trompe ou proboscis de la femelle est très développée chez les Culicidés, sa longueur témoigne de son mode d'alimentation de type piqueur-suceur (Rueda & Debboun, 2020, p. 1). Elle se compose d'un labium, ainsi que des pièces buccales vulnérantes : les stylets, constitués du labrum, de l'hypopharynx, d'une paire de mandibules, ainsi que d'une paire de maxilles (Figure 26). Le labium joue le rôle de lèvre inférieure, et possède un sillon dans lequel vient se loger le faisceau vulnérant. Il ne pénètre pas dans la peau, il se replie lors du repas sanguin, servant ainsi de guide au faisceau pénétrant (Figure 27). Il se termine par une paire de labelles sensibles au goût.

Le labrum, relié à l'intestin antérieur, forme avec l'hypopharynx le canal alimentaire en se repliant latéralement. C'est via ce canal que les femelles hématophages aspirent le sang de l'hôte. L'hypopharynx possède également des glandes salivaires, qui déversent leur contenu dans le sang de l'hôte, via le canal salivaire. Cette salive est primordiale car elle possède des propriétés anticoagulantes et antiagrégantes plaquettaires, facilitant ainsi la prise alimentaire du moustique. Les maxilles possèdent une extrémité dentée alors que les mandibules et l'hypopharynx possèdent une extrémité pointue (Figure 26). Ces stylets de différentes formes permettent de percer la peau de l'hôte ainsi que de faire progresser le faisceau vulnérant au sein des tissus de l'hôte en glissant les uns sur les autres. Les stylets vont ainsi chercher un vaisseau sanguin, puis les maxilles vont maintenir le faisceau en place, alors que les mandibules vont venir sectionner la paroi du vaisseau pour permettre au faisceau de s'y introduire. Le temps d'ingestion peut ainsi durer jusqu'à quatre minutes, puis le moustique se retire pour s'abriter dans le site de repos où il effectue la digestion (Foster & Walker, 2019).



Figure 27 : Photographie d'Aedes albopictus effectuant son repas sanguin chez un être humain, selon Gathany (2002)

3. Epidémiologie

a. Facteurs d'expansion de *Dirofilaria immitis*

La dirofilariose cardio-pulmonaire canine est cosmopolite et inégale, allant des régions tropicales et subtropicales aux régions tempérées. La transmission de *D. immitis* s'effectue, comme vu dans la partie précédente, par la présence de vecteurs compétents, mais une transmission par voie verticale est également possible, avec la diffusion de microfilaries de femelles gestantes à travers le placenta. La transmission lors d'une transfusion a également été documentée (Villeneuve, 2014).

La dirofilariose canine à *D. immitis* est une maladie à potentiel zoonotique, pouvant se transmettre à l'Homme, qui est alors une impasse parasitaire, avec la présence d'un cycle de développement incomplet de *D. immitis*.

La dynamique de distribution du parasite *D. immitis* chez les chiens est la résultante de nombreux facteurs, dont (Simón et al., 2012) :

- Les facteurs liés à la gestion humaine des chiens (voyages, traitements prophylactiques).
- Les facteurs climatiques et environnementaux d'origine humaine, favorisant la transmission de *D. immitis* via la population de vecteurs compétents.
- L'abondance des réservoirs microfilariémiques.

En effet, le comportement humain envers les chiens est un facteur essentiel à la distribution de la dirofilariose cardio-pulmonaire canine. Il implique les déplacements canins entre les différents pays, à destination des régions endémiques ou depuis ces dernières, notamment lors de voyages. Ces mouvements canins sont facilités depuis la mise en place du « Pet Travel Scheme » en 2000, un programme visant à faciliter les transferts d'animaux de compagnie au niveau des pays membres de l'Union Européenne (Genchi & Kramer, 2020).

La gestion humaine des chiens comprend également l'application des mesures prophylactiques contre la dirofilariose canine, telles que la lutte antivectorielle ou la chimioprophylaxie.

Certains facteurs intrinsèques aux chiens sont liés à un risque de transmission plus élevé. Les chiens de grande taille, âgés de plus de trois ans et d'extérieurs ou errants, sont plus à risque d'être infectés par *D. immitis* (McCall et al., 2008).

Le changement climatique a un impact sur les populations de vecteurs compétents et sur la transmission parasitaire. Il induit l'élargissement des zones géographiques ainsi que l'allongement des périodes d'activité des vecteurs de *D. immitis*, et il permet également la réduction du temps de développement larvaire du stade L1 au stade L3 au sein des moustiques. Cela est permis notamment par les modifications des conditions de température liées au réchauffement (Simón et al., 2012). En effet, il faut que la température ambiante soit

maintenue suffisamment de temps au-dessus de 14°C pour que le parasite atteigne le stade de larve infectante au sein des moustiques (Anvari et al., 2020).

Les aménagements environnementaux introduits par l'Homme, tels que l'urbanisation des zones sauvages, entraînant une accumulation de la chaleur localement notamment par le béton, ainsi que la mise en place de système d'irrigation, créent des micro-environnements favorables au développement des vecteurs et à la transmission de *D. immitis* (Morchón et al., 2022).

Le moustique tigre *Aedes albopictus* (Figure 27), est un exemple d'expansion du territoire d'une espèce vectorielle par l'activité humaine, potentialisant ainsi la transmission de la maladie.

En effet, *Aedes albopictus*, originaire d'Asie, a été introduit dans de nouvelles zones, dont certaines sont des zones endémiques à *D. immitis*, par l'intermédiaire du commerce de pneus, notamment en Europe et en Amérique. Ce moustique est un vecteur avéré de *D. immitis*, et il s'est adapté aux zones tempérées.

Le chien est l'hôte définitif préférentiel de *D. immitis*, cependant des canidés sauvages tels que des coyotes, des loups, des renards, des chacals peuvent aussi servir d'hôte définitif pour le parasite, et ainsi former des réservoirs microfilarémiques de *D. immitis*. Les chats et les félins sauvages peuvent également être infectés et servir de réservoirs dans les zones hyperendémiques, mais dans une moindre mesure (McCall et al., 2008). Ces réservoirs présentent un rôle non négligeable dans la persistance et la propagation de *D. immitis*, car ils peuvent transmettre des microfilaires aux vecteurs compétents s'ils se localisent dans la même zone géographique. La vaccination des renards contre le rage est un exemple de facteur menant à la croissance des réservoirs parasitaires (Meireles et al., 2014).

b. Europe

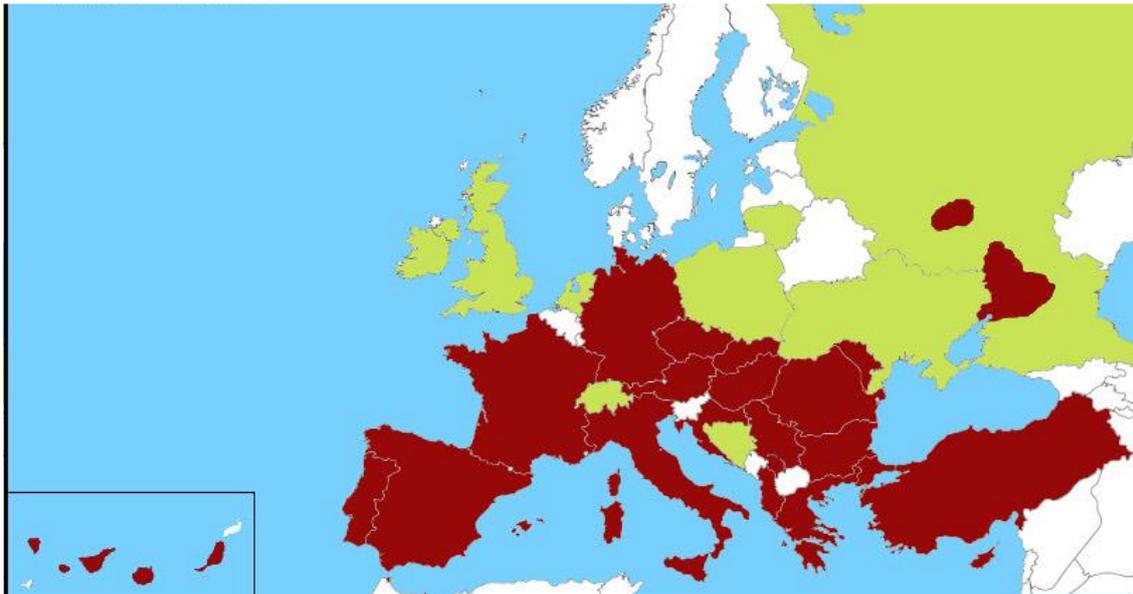


Figure 28 : Répartition géographique de *D. immitis* chez le chien en Europe en 2021, selon Morchón et al., (2022). Zone rouge : zone endémique. Zone verte : zone ayant des cas sporadiques.

En Europe, les régions où la prévalence de l'infection canine à *D. immitis* est la plus élevée se concentrent particulièrement autour du bassin méditerranéen, au Sud de l'Europe, où cette maladie est endémique depuis de nombreuses années : France, Italie, Espagne, Portugal, Grèce et notamment au niveau de la péninsule balkanique (Morchón et al., 2022). En effet, cette maladie a été décrite pour la première fois en France en 1679, et en Europe au niveau de l'Italie en 1626 (Laidoudi et al., 2019, 2021). La prévalence de *D. immitis* chez le chien varie en fonction des régions au sein d'un même pays, ainsi en France cette maladie est particulièrement présente au niveau du Sud (Bouches-du-Rhône, Corse) et dans le Centre du pays (Indre), et a tendance à se propager vers le Nord (Laidoudi et al., 2019 ; Morchón et al., 2022). Depuis quelques années, *D. immitis* se propage vers l'Est ainsi que le Nord-Est de l'Europe, favorisant l'émergence de nouveaux pays endémiques (Figure 28) (Genchi & Kramer, 2020). Ainsi depuis 2011, l'Albanie, le Kosovo, l'Autriche, la Hongrie, la Slovaquie, la région de la réserve naturelle de Voronezh en Russie, la Moldavie et notamment Chypre, sont des nouvelles régions endémiques d'Europe. L'apparition de nouveaux cas isolés, a également été documentée dans certains pays où aucune infection canine à *D. immitis* n'avait été recensée, c'est notamment le cas de la Lituanie, de la Pologne, de l'Ukraine, de l'Irlande, et de la Bosnie-Herzégovine (Morchón et al., 2022).

Une diminution de la prévalence a cependant été observée, en particulier dans certaines zones endémiques et hyperendémiques d'Europe (notamment dans la vallée du Pô en Italie). Cela pourrait être le résultat d'une sensibilisation des praticiens vétérinaires mais également des propriétaires canins (Genchi & Kramer, 2020).

Les périodes de transmission de *D. immitis* chez le chien en Europe ne sont pas continues, et varient selon la localisation géographique (Tableau 9).

Tableau 9 : Tableau des périodes de transmission potentielles de *D. immitis* dans différentes villes d'Europe, modifié d'après Genchi et al. (2005)

Pays	Ville	Période de transmission
France	Bordeaux	1 Juin – 10 Octobre
	Paris	21 Juin- 10 Septembre
Belgique	Bruxelles	1 Juin – 10 Septembre
Angleterre	Londres	21 Juin – 20 Septembre
Allemagne	Berlin	21 Juin – 30 Septembre
Suisse	Zurich	21 Juin – 10 Septembre
Italie	Rome	1 Juin- 31 Octobre
	Palerme	11 Mai – 30 Novembre
Espagne	Madrid	21 Mai – 10 Octobre
Portugal	Lisbonne	11 Juin – 20 Octobre
Grèce	Athènes	11 Mai – 10 Novembre
Finlande	Helsinki	21 Juin – 31 Juillet
Roumanie	Bucarest	21 Mai – 30 Septembre
Albanie	Tirana	21 Mai – 31 Octobre

c. Reste du monde

Dans les pays tropicaux, le risque d'infection canine à *D. immitis* peut être constant, sans suivre de rythme saisonnier (Beugnet et al., 2021c).

- Amérique

La dirofilariose canine à *D. immitis* est présente dans toutes les régions du continent américain : en Amérique centrale, du Nord, du Sud, ainsi qu'au niveau des Caraïbes. Il existe cependant deux pays faisant exception : le Chili et l'Uruguay (absence d'études), où l'infection à *D. immitis* chez le chien n'a pas été diagnostiquée (Dantas-Torres & Otranto, 2020). Il y a une disparité au niveau de la prévalence de la dirofilariose canine à *D. immitis* en fonction du pays.

Aux États-Unis d'Amérique, la prévalence est élevée au niveau des régions traditionnellement endémiques se concentrant particulièrement à l'Est au niveau de la côte Atlantique et de la côte du Golf, mais une propagation s'est effectuée vers le Centre à l'Ouest du pays (McCall et al., 2008). La première observation de *D. immitis* chez le chien aux États-Unis date de 1847 (Dantas-Torres & Otranto, 2020).

Au Canada, doté d'un climat plus froid, la prévalence de l'infection est généralement plus faible, avec la présence de régions endémiques notamment au Sud de l'Ontario (Klotins et al., 2000).

Dans le reste du continent, les prévalences les plus importantes se concentrent principalement au niveau de régions endémiques de la côte du Golfe du Mexique, des Caraïbes (Cuba, Porto Rico, Bahamas), de l'Argentine, et au Nord-Est du Brésil (Dantas-Torres & Otranto, 2020 ; McCall et al., 2008 ; Simón et al., 2012). Le premier cas de *D. immitis* signalé chez le chien en Amérique du Sud a été rapporté au Brésil en 1878 (Bendas et al., 2017). Dans certaines régions du Nord de l'Amérique du Sud, la transmission peut avoir lieu tout au long de l'année, sans suivre de rythme saisonnier (Cuervo et al., 2015).

- **Afrique**

En Afrique, la répartition des infections canines à *D. immitis* n'a pas été précisément déterminée, notamment par le manque d'études épidémiologiques réalisées. Cette infection a cependant été décrite dans plusieurs pays du continent : Maroc, Algérie, Tunisie, Egypte, Tanzanie, Kenya, Malawi, Mozambique, Sénégal, Angola, Gabon, Sierra Léone, Afrique du Sud (Simón & Genchi, 2001 ; Tahir et al., 2017).

- **Asie**

En Asie, l'infection parasitaire est présente dans de nombreuses régions et îles du Pacifique. C'est dans des régions d'Asie centrale (Simón et al., 2012), d'Iran (Khedri et al., 2014), du Sri-Lanka (Dasanayake et al., 2022), du Nord-Est de l'Inde (Borthakur et al., 2014), de Malaisie (Chelliah & Šlapeta, 2019), du Japon (Oi et al., 2014), de Corée du Sud (Song et al., 2010) et à Taiwan (Lu et al., 2017), que des études ont documenté de forts taux d'infection.

- **Australie**

En Australie, les zones endémiques se concentrent plutôt sur la côte Ouest et dans certaines régions de l'Est du pays (McCall et al., 2008).

4. Physiopathologie et manifestations cliniques

La dirofilariose cardio-pulmonaire canine évolue, en général, de façon progressive, allant de troubles cardio-respiratoires jusqu'à l'insuffisance cardiaque droite irréversible pouvant entraîner le décès du chien par détresse respiratoire. L'apparition relativement lente des signes cliniques est due à l'accumulation progressive des vers causée par des infestations canines répétées par *D. immitis*. En effet, de nombreux chiens porteurs de *D. immitis* sont longtemps asymptomatiques, en raison de la période d'incubation longue, pouvant aller de plusieurs mois à années (Beugnet et al., 2021c).

Des accès aigus peuvent survenir lors de cette évolution chronique, notamment par l'apparition de thromboembolie au niveau des artères pulmonaires liées à la présence de vers du cœur morts ou mourant (Basset & Sauguet, 2016).

Dans certains cas, des infestations dites « massives » peuvent se produire et être à l'origine du syndrome de la veine cave, causée par une forte présence des nématodes au sein du ventricule droit, de l'oreillette droite et de la veine cave (Villeneuve, 2014).

La majorité des signes cliniques est causée par la présence des vers adultes et pré-adultes de *D. immitis* au sein des artères pulmonaires, en particulier au niveau des vaisseaux des lobes pulmonaires caudaux. Les vers du cœur provoquent des lésions au niveau de ces artères, mais aussi au niveau du parenchyme pulmonaire environnant (Bowman & Atkins, 2009). Ces lésions peuvent se produire dès l'arrivée des vers immatures dans la vascularisation pulmonaire, à savoir lors du troisième mois d'infestation. Seuls les vers adultes se situent au niveau du ventricule droit (Figure 29). Les manifestations liées à ces lésions dépendent notamment du nombre de vers infestants, de la durée de l'infestation et de l'activité physique du chien (Simón et al., 2012).

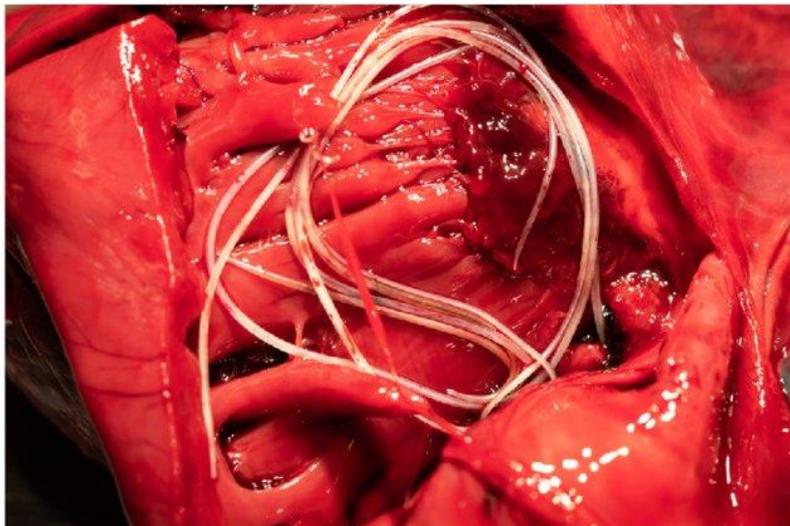


Figure 29 : Vers adultes de *D. immitis* au sein du ventricule droit d'un chien infesté, selon Laidoudi et al. (2019)

Dans un premier temps, les lésions des vers du cœur surviennent au niveau de l'endothélium de la paroi artérielle pulmonaire environnante. Ils agissent mécaniquement en désorganisant les cellules endothéliales qui les entourent. Le sous-endothélium ainsi exposé permet aux leucocytes et notamment aux plaquettes d'y adhérer. Interviennent ensuite différentes étapes dont l'activation, l'agrégation plaquettaire, et la synthèse de facteurs de croissance par les plaquettes qui vont stimuler la prolifération des cellules musculaires lisses de la tunique vasculaire médiane de l'artère pulmonaire. Les cellules musculaires lisses vont ensuite migrer en direction de l'intima, provoquant la formation de villosités, obstruant la lumière vasculaire et augmentant le risque de formation de thrombose. Les facteurs trophiques produits par les plaquettes et les leucocytes induisent également une accumulation de matrice extracellulaire dans l'intima, notamment de collagène, à l'origine d'une fibrose. Ces lésions aboutissent à l'épaississement de la paroi des vaisseaux artériels, ainsi qu'à la réduction de l'élasticité et de la compliance des vaisseaux artériels pulmonaires. Par conséquent, l'ensemble de ces dégâts va provoquer l'augmentation de la résistance vasculaire pulmonaire, qui sera elle-même à l'origine d'une hypertension pulmonaire (McCall et al., 2008 ; Melleret, 2020).

Le cœur droit, en réponse à l'augmentation de la résistance vasculaire pulmonaire et à l'hypertension, accroît son travail pour maintenir une perfusion pulmonaire suffisante. Il en résulte l'apparition d'une hypertrophie du ventricule droit. Cependant, lors d'efforts physiques, le cœur et les vaisseaux pulmonaires endommagés ne pourront pas satisfaire les besoins accrus en oxygène, à l'origine de l'apparition de signes cliniques pendant l'effort. Lors de la progression de la maladie, le ventricule droit va s'épuiser, ne pouvant plus compenser de telles conditions de pressions, ce qui aura alors pour conséquence l'apparition d'une insuffisance cardiaque droite dite congestive (McCall et al., 2008).

L'altération de l'endothélium vasculaire par les nématodes induit également une augmentation de la perméabilité vasculaire, pouvant être à l'origine d'un œdème périvasculaire et d'une altération du parenchyme pulmonaire (Adebayo et al., 2020).

Des lésions aiguës plus importantes peuvent être causées par la présence de vers du cœur morts. En effet, les vers du cœur morts naturellement ou suite à un traitement, se décomposent en de multiples fragments qui sont amenés par le débit sanguin au niveau des artères pulmonaires de plus petit calibre, à l'origine de thromboembolie. La thromboembolie aggrave les lésions initialement présentes au niveau des vaisseaux pulmonaires, ce qui a pour conséquence la potentialisation de l'hypertension pulmonaire, de l'insuffisance cardiaque droite, et dans certains cas la survenue éventuelle d'un infarctus pulmonaire (Bowman & Atkins, 2009).

Un autre syndrome plus grave cliniquement, nommé syndrome cave, est également possible en cas d'une forte charge parasitaire. Il est lié à la migration rétrograde des vers adultes de *D. immitis* qui se localisent au niveau du ventricule droit, de l'oreillette droite, de la valve tricuspide et de la veine cave caudale. L'obstruction induite par les vers altère le retour veineux du sang au cœur. Ce phénomène est à l'origine d'une hémolyse soudaine et intense ainsi que d'une hémoglobinurie, résultant d'un état de choc causé par les changements hémodynamiques (Beugnet et al., 2021c ; Villeneuve, 2014).

Les microfilaries de *D. immitis* peuvent aussi être à l'origine de lésions chez le chien. En effet, elles peuvent être à l'origine d'une obstruction mécanique de la circulation sanguine au sein des capillaires sanguins (peau, reins) (Douchez, 2017). Dans d'autres cas, elles peuvent provoquer une pneumonie à éosinophiles provoquée par la réponse immunitaire de l'hôte envers les antigènes microfilariens au sein des capillaires pulmonaires. La pneumonie à éosinophile altère le parenchyme pulmonaire, et est à l'origine d'une insuffisance pulmonaire (Hoch & Strickland, 2008 ; Simón et al., 2012).

Une glomérulonéphrite est également possible par formation de complexes immuns antigènes (adultes et microfilaries de *D. immitis*) - anticorps qui se déposent sur la membrane basale glomérulaire. L'évolution vers l'insuffisance rénale est rare (Bowman & Atkins, 2009 ; Semat, 2016).

Les vers du cœur peuvent, dans quelques cas, migrer de façon aberrante dans d'autres organes : au niveau de la chambre antérieure de l'œil, de la moelle épinière, du foie et du cerveau notamment (Hoch & Strickland, 2008).

Les manifestations cardio-pulmonaires peuvent être classées en quatre stades cliniques en fonction de leur gravité (Tableau 10). Le premier stade correspond aux lésions initiales, lorsque le cœur arrive encore à compenser l'hypertension pulmonaire. Le deuxième stade comprend des signes cliniques liés à une évolution plus avancée de la dirofilariose, avec le début de la décompensation cardiaque. Le stade trois correspond à un stade de maladie sévère, aboutissant progressivement au décès du chien par détresse respiratoire ou bien de façon plus subite par événements thromboemboliques pulmonaires. Le stade quatre est associé au syndrome cave, produit lors d'une infestation massive (Beugnet et al., 2021c).

*Tableau 10 : Classification des différents signes cliniques possibles suite à l'infestation canine à *D. immitis*, modifié selon Beugnet et al. (2021)*

Signes cardio-pulmonaires	Stade 1	Fatigabilité excessive Diminution de l'appétit
	Stade 2	Toux Dyspnée d'effort Essoufflement au repos
	Stade 3	Tachycardie Dyspnée Toux au repos Ascite Muqueuses cyanosées Perte de poids
	Stade 4	Syndrome cave : anémie, hémoglobinurie, état de choc

5. Diagnostic

Les données épidémiologiques ajoutées aux éventuels signes cliniques présentés lors de l'auscultation par le chien infecté, permettent d'orienter le diagnostic. L'analyse sanguine oriente également le diagnostic, en particulier en présence d'éosinophilie, de neutrophilie, d'anémie non régénérative, de leucocytose, d'hyperbilirubinémie, d'augmentation des enzymes hépatiques ou de protéinurie (Beugnet et al., 2021c).

Divers examens d'imagerie médicale sont également réalisables. En pratique, ces derniers sont le plus souvent réalisés en complément des tests diagnostiques de laboratoire, dans l'objectif de déterminer l'état d'avancement de la dirofilariose.

Le diagnostic biologique, direct et indirect (sérologique), est dans un premier temps réalisé afin de confirmer la présence de *D. immitis* chez le chien (Villeneuve, 2014). Le diagnostic biologique peut aussi permettre d'établir un pronostic de la maladie et d'optimiser le traitement (ESCCAP, 2011).

a. Diagnostic clinique

- Radiographie thoracique

Cet examen, insuffisant pour poser un diagnostic de dirofilariose cardio-pulmonaire canine, ou pour évaluer la charge parasitaire canine, permet d'évaluer le degré de sévérité de la maladie cardio-pulmonaire (Simón et al., 2012).

La radiographie thoracique est principalement réalisée lorsque des signes cliniques évocateurs d'une atteinte cardiaque et/ou respiratoire sont préalablement identifiés.

Les signes caractéristiques d'une atteinte vasculaire, pouvant être mis en évidence sur les clichés radiographiques, sont principalement l'aspect des artères pulmonaires apparaissant hypertrophiées, tortueuses, déformées et interrompues (McCall et al., 2008).

L'atteinte du parenchyme pulmonaire peut également être identifiée, notamment par la présence de zones d'opacification, pouvant être provoquées par une pneumonie éosinophilique (Beugnet et al., 2021c).

Dans les stades avancés de dirofilariose cardio-pulmonaire canine, une cardiomégalie droite témoignant d'une hypertrophie ventriculaire droite, peut être distinguée.

La radiographie pulmonaire repose, dans la plupart des cas, sur l'étude de deux vues différentes, le plus souvent une projection dorso-ventrale et une projection latérale (Bowman & Atkins, 2009).

- **Echocardiographie**

L'échocardiographie permet, dans certains cas, la confirmation du diagnostic de dirofilariose cardio-pulmonaire canine par visualisation de nématodes, très échogéniques, dans les cavités cardiaques droites, dans le tronc pulmonaire, ou au niveau de la veine cave caudale (McCall et al., 2008).

Cependant la sensibilité de cette méthode est relativement faible pour le diagnostic de la dirofilariose canine à *D. immitis*. En effet, les vers du cœur sont visibles à l'échocardiographie principalement lors de fortes charges parasitaires ou de syndrome cave (*American Heartworm Society*, 2020).

L'échocardiographie est donc majoritairement réalisée lors d'atteinte sévère, suggérée par les manifestations cliniques et éventuellement par la radiographie thoracique (McCall et al., 2008).

D'autres signes d'orientation de dirofilariose cardio-pulmonaire canine, non spécifiques, sont observables à l'échocardiographie, notamment une hypertrophie du ventricule droit, ainsi que l'élargissement de l'artère pulmonaire principale.

Une échocardiographie doppler peut enfin être effectuée, permettant la mise en évidence éventuelle d'une hypertension pulmonaire (Simón et al., 2012).

b. Diagnostic biologique

Il repose sur la détection de protéines circulantes dans le sang canin principalement excrétées par les femelles adultes de *D. immitis*, ainsi que sur la détection des microfilaries présentes dans le sang du chien infecté. La réalisation de ces deux types de tests est conseillée pour confirmer la présence éventuelle de *D. immitis* dans le sang d'un chien (*American Heartworm Society*, 2020).

- **Détection des microfilaries**

La mise en évidence directe, au microscope, des microfilaries de *D. immitis* sur un frottis de sang canin est une méthode permettant la confirmation du diagnostic de dirofilariose cardio-pulmonaire canine. C'est une méthode simple et rapide, mais peu sensible, en particulier lorsque la microfilarémie dans le sang canin est faible.

C'est pour cette raison que d'autres méthodes sont prioritairement utilisées, telles que le test de Knott modifié et le test de filtration sur membrane Millipore. Il s'agit de méthodes de concentration des échantillons sanguins, permettant de visualiser les microfilaries après coloration, même lorsque les charges parasitaires sont plus faibles. Le test de Knott modifié est considéré comme étant la méthode de référence pour la visualisation et la distinction des microfilaries de *D. immitis*. Il consiste en une hémolyse suivie de la centrifugation d'un

échantillon de sang, alors que le test de filtration sur membrane Millipore consiste en une hémolyse du sang suivi d'une filtration sur membrane (Beugnet et al., 2021c).

30%, ou un peu plus, des chiens infestés par des vers adultes de *D. immitis* ne présentent pas de microfilaires dans le sang périphérique (ESCCAP, 2011). Une infection par des vers du cœur appartenant à un seul sexe, l'administration de traitements microfilaricides, la destruction des microfilaires par le système immunitaire ou un prélèvement sanguin lors de la période pré-patente, sont des éléments pouvant expliquer l'amicofilarémie des chiens infestés par *D. immitis*. Les méthodes de mise en évidence des microfilaires manquent de sensibilité, c'est pour cette raison qu'il est recommandé d'effectuer en parallèle un test antigénique (Douchez, 2017 ; Negron et al., 2022).

Il existe plusieurs espèces de filarioïdes produisant des microfilaires qui circulent dans le sang du chien en plus des microfilaires de *D. immitis*, telles que les microfilaires de *Dirofilaria repens*, d'*A. reconditum*, et d'*A. dracunculoides* (Cortes et al., 2014).

Un diagnostic différentiel est donc nécessaire, se basant sur les caractéristiques morphologiques des différentes microfilaires, telles que la taille de ces dernières par exemple (les microfilaires de *D. immitis* mesurent 290 à 330 µm de long sur 5 à 7 µm de large) (Beugnet et al., 2021c).

La réalisation d'une coloration histochimique utilisant l'activité de la phosphatase alcaline, peut aussi être réalisée en particulier pour différencier des microfilaires de *D. immitis* (apparition de deux taches rouges) et de *D. repens* (apparition d'une tache rouge), plus difficiles à différencier (Little et al., 2018).

L'approche moléculaire par PCR permet l'identification précise des microfilaires ; elle utilise des cibles génétiques telles que le gène mitochondrial codant pour la COX-1, ainsi que les séquences nucléotidiques nucléaires codant l'ARNr 12S ou 16S (Little et al., 2018). Une technique de PCR duplex en temps réel permettant la discrimination simultanée des microfilaires de *D. immitis* et de *D. repens*, ainsi qu'une technique de PCR multiplex différenciant simultanément les microfilaires de plusieurs filarioïdes dans le sang canin (*D. immitis*, *D. repens*, *A. rependum*) ont été décrites. Elles sont particulièrement intéressantes pour les enquêtes épidémiologiques, ce sont des méthodes simples, rapides et précises (Latrofa, Dantas-Torres, et al., 2012 ; Latrofa, Weigl, et al., 2012).

- Détection des antigènes circulants

Les tests antigéniques sont actuellement considérés comme étant les méthodes les plus sensibles, permettant la détection d'antigènes de *D. immitis*, même en cas d'infections microfilarémiques (Negron et al., 2022).

Plusieurs techniques sont disponibles sur le marché, utilisant la méthode ELISA ou immunochromatographique. Ces différents kits commerciaux ciblent, via des anticorps monoclonaux, une glycoprotéine principalement sécrétée par les femelles adultes de *D. immitis*. Les antigènes sécrétés par *D. immitis* sont détectables dans le sang du chien infecté dans un délai minimal de six mois après infection. La quantité d'antigènes circulants dans le sang peut être déterminée par ELISA, et donne une indication sur la charge de vers adultes femelles de *D. immitis* présentes chez le chien. Cependant, il n'est actuellement pas recommandé d'établir cette corrélation, notamment en raison d'une importante imprécision pouvant en résulter. En effet, une augmentation du nombre d'antigènes circulants dans le sang peut être secondaire à la mort des vers du cœur (*American Heartworm Society, 2020*).

Ces différentes techniques de détection antigénique sont rapides, pratiques, très spécifiques de *D. immitis*, et présentent également une bonne sensibilité (*Companion Animal Parasite Council, 2020*).

Il est possible dans certains cas que des résultats faussement négatifs apparaissent en test antigénique, malgré la présence de vers adultes de *D. immitis*. Cela peut être le cas notamment lors d'une mauvaise identification de l'espèce de microfilarie ; après l'administration d'un traitement adulticide ; après une transfusion de sang canin contenant des microfilaries ; après une transmission de microfilaries par voie verticale ; lors d'une faible présence de vers adultes femelles ; lors d'une infestation inférieure à six mois ou lors de la présence d'antigènes bloqués au sein de complexes immuns (Little et al., 2018).

Une technique a été mise au point pour réduire le risque de résultat faussement négatif ; elle repose sur le prétraitement thermique de l'échantillon à analyser, afin de libérer les antigènes complexés au sein de complexes immuns. Ce prétraitement est recommandé lorsque les données cliniques et épidémiologiques suggèrent une infestation par *D. immitis*, mais que le test antigénique initial est négatif. En effet, le prétraitement thermique peut augmenter le risque de résultat faussement positif (Little et al., 2018).

Les méthodes sérologiques de détection des anticorps spécifiques de *D. immitis*, ne sont pas utilisées en routine pour le diagnostic de la dirofilariose canine à *D. immitis* par manque de spécificité (*ESCCAP, 2011*).

Il est actuellement recommandé d'utiliser en association les tests de mise en évidence des microfilaries ainsi que les tests antigéniques lors de la confirmation du diagnostic de dirofilariose cardio-pulmonaire canine (*American Heartworm Society, 2020 ; Companion Animal Parasite Council, 2020*).

6. Prophylaxie

a. Lutte antivectorielle

La lutte contre les vecteurs Culicidés est la stratégie à mettre en place en premier lieu pour la prévention des infections canines à *D. immitis*.

Cette lutte consiste à limiter l'exposition du chien aux piqûres de moustiques.

Cependant, ces méthodes de lutte, seules, ne seront pas suffisantes pour la prévention de la dirofilariose cardio-pulmonaire canine. En effet, il est compliqué d'empêcher totalement le contact entre les moustiques et les chiens, c'est pour cela qu'un traitement chimioprophylactique devra être réalisé en parallèle au sein des zones endémiques (Prichard, 2021).

Les moyens de lutte antivectorielle seront détaillés dans la partie dédiée (partie III).

b. Chimioprophylaxie

Le traitement chimioprophylactique est un élément essentiel de la lutte contre la dirofilariose cardio-pulmonaire canine.

Il prévient l'établissement de la pathologie en évitant la formation de vers du cœur adultes dans l'appareil cardio-respiratoire, et permet ainsi d'éviter le recours aux traitements adulticides, comprenant des risques non négligeables pour le chien.

Les molécules utilisées sont des lactones macrocycliques, et sont réparties dans deux familles chimiques : les avermectines (ivermectine, sélamectine) et les milbémycines (milbémycine oxyme, moxidectine) (Wolstenholme et al., 2015).

Ces molécules agissent sur les larves de stades L3 et L4 de *D. immitis*, en induisant une paralysie flasque chez les nématodes. Plusieurs formulations ont été commercialisées, comprenant différentes formes pharmaceutiques et différents dosages (Tableau 11).

De nombreuses formulations sont associées avec un autre antiparasitaire, permettant d'élargir leur spectre d'action (Beugnet et al., 2021c).

Il est recommandé de tester les chiens, au moins une fois par an, avant le début de la saison de transmission de *D. immitis* et au moins six mois après le dernier traitement, afin de savoir si le chien est infesté ou non pour réaliser un traitement précoce et limiter l'apparition de souches résistantes aux lactones macrocycliques. Il est également conseillé de les tester avant l'administration du traitement prophylactique (McCall et al., 2008).

En effet, des isolats résistants de *D. immitis* aux lactones macrocycliques ont été identifiés dans la région du delta du Mississippi aux Etats-Unis. La résistance à ces molécules n'a pas été signalée en Europe à notre connaissance, certainement parce que cette résistance ne se répand et ne s'établit pas aisément (Diakou & Prichard, 2021). Cependant, il persiste encore

beaucoup d'inconnues sur les populations de *D. immitis* résistantes aux lactones macrocycliques (Prichard, 2021).

L'administration est recommandée pour les chiens vivant en zone d'endémie ou voyageant dans ces territoires (ESCCAP, 2011). L'administration de la majorité des lactones macrocycliques se fait à intervalle de 30 jours, en débutant un mois avant la période de transmission de *D. immitis*, et en se terminant un mois après (Simón et al., 2012). Dans les zones où *D. immitis* est transmis toute l'année, la chimioprophylaxie est également requise tout au long de l'année.

Les lactones macrocycliques agissent principalement sur les larves qui ont été inoculées depuis moins de deux mois chez le chien (Wolstenholme et al., 2015).

Une formule en injection sous-cutanée de moxidectine a été élaborée (Tableau 11), et permet une protection pendant six mois, soit quasiment la totalité de la période de transmission dans de nombreuses régions.

Certaines races de chiens présentent une mutation du gène MDR-1 codant pour la glycoprotéine P (P-gp), une protéine d'efflux ayant pour objectif de limiter l'entrée de médicaments au niveau de la barrière hémato-encéphalique, permettant d'éviter l'accumulation de substances dans le cerveau. Les races de chiens les plus concernées par ce phénomène sont les Colleys, les Bergers blancs suisse, les Bergers australiens, les Shetlands, les Bobtails, les Border collies, les Lévrier à poils long. Les chiens porteurs de cette mutation sont davantage sensibles aux médicaments substrats de la glycoprotéine P, tels que les lactones macrocycliques, certains antidépresseurs (fluoxétine), ainsi que certains anti-infectieux (kétoconazole, érythromycine) par exemple. Il a été démontré que dans le cas de l'utilisation prophylactique des lactones macrocycliques envers *D. immitis* chez le chien, le dosage de ces molécules est sans danger d'intoxication pour ces races de chiens à risques. Il est cependant recommandé aux propriétaires d'être particulièrement vigilants lors de l'administration, notamment d'éviter les surdosages, et de ne pas avoir recours en parallèle à un autre produit contenant des lactones macrocycliques ou d'autres substrats de la glycoprotéine P. Les symptômes d'intoxications peuvent être l'ataxie, la prostration, la mydriase, la cécité, les convulsions, le coma et la mort (*American Heartworm Society*, 2020).

Tableau 11 : Caractéristiques des différentes lactones macrocycliques utilisées dans la chimioprophylaxie de la dirofilariose cardio-pulmonaire canine, modifié selon Beugnet et al. (2021)

Caractéristiques Molécule	Mode d'action	Posologie	Forme pharmaceutique	Spécialité pharmaceutique
Sélamectine	Paralyse flasque par augmentation de la perméabilité des ions chlorures par fixation aux canaux chlorure glutamate-dépendants	6 mg/kg à intervalle de 30 jours	Forme spot-on	STRONGHOLD® (sélamectine)
Milbémycine oxyme		500 µg/kg à intervalle de 30 jours	Forme orale	MILBEMAX® (milbémycine + praziquantel) NEXGARD SPECTRA® (milbémycine + afoxonaler)
Moxidectine		2 à 4 µg/kg à intervalle de 30 jours	Forme orale	SIMPARICA TRIO® (sarolaner + moxidectine + pyrantel)
		2,5 mg/kg à intervalle de 30 jours	Forme spot-on	ADVOCATE® (imidaclopride + moxidectine)
		0,17 mg/kg à intervalle de 6 mois	Forme injectable	GUARDIAN SR® (moxydectine)

7. Traitement

Une fois le diagnostic de dirofilariose cardio-pulmonaire canine posé, un traitement doit être rapidement mis en place, en plus des méthodes employées pour limiter les réinfestations. L'*American Heartworm Society* recommande de traiter tous les chiens infectés, dans l'objectif de lutter contre les possibles émergences de résistances aux lactones macrocycliques.

Avant la mise en place du traitement, il est important d'effectuer un bilan de santé de chaque chien infecté, reposant sur l'évaluation de la charge parasitaire, de la taille ainsi que de l'âge des chiens. Cette évaluation permettra aux praticiens vétérinaires d'élaborer un plan de traitement (Villeneuve, 2014).

De nombreux protocoles de traitement ont été proposés ces dernières années, et ont évolué dans le but d'optimiser la sécurité et l'efficacité du traitement (Bowman & Drake, 2017).

La seule molécule adulticide actuellement autorisée pour le traitement de l'infection canine à *D. immitis* est un dérivé arsenical : le dichlorhydrate de mélarsomine, administré par voie intra-musculaire (IMMITICIDE®). Cette molécule agit sur les vers adultes et pré-adultes, âgés de plus de deux mois après l'infection canine, même s'il a été montré que l'efficacité diminue lors du vieillissement des vers du cœur, à partir de l'âge de quatre mois après l'infection canine (Bowman & Drake, 2017).

Le thromboembolisme pulmonaire est une conséquence inévitable du traitement adulticide. Il est causé par la mort et par la décomposition des vers adultes en fragments qui obstruent la circulation artérielle pulmonaire. Le risque le plus à craindre est la thromboembolie pulmonaire sévère mortelle, induite en cas de mort massive des vers du cœur. Le thromboembolisme peut se manifester par une toux, une dyspnée, de la fièvre, une hémoptysie. Ces signes peuvent apparaître à partir d'une semaine après le traitement et jusqu'à quatre semaines après (Villeneuve, 2014). Afin de contrôler ce risque, la restriction de l'activité du chien est recommandée dès l'initiation du traitement et jusqu'à deux mois après la dernière injection de mélarsomine (Beugnet et al., 2021c). Cette restriction d'efforts physiques consiste en une éviction des promenades, courses et dans certains cas un repos strict en cage. L'utilisation de glucocorticoïdes (prednisone ou prednisolone) (Tableau 12) et d'héparine peuvent aussi être préconisés pour contrôler les phénomènes thromboemboliques.

L'objectif du traitement est d'obtenir une mort et une destruction progressive des vers du cœur au niveau cardio-pulmonaire (McCall et al., 2008).

L'*American Heartworm society* a élaboré des recommandations concernant le protocole de traitement de *D. immitis* chez le chien (*American Heartworm Society*, 2020) (Tableau 12). Ce protocole repose sur l'administration de trois doses de dichlorhydrate de mélarsomine permettant une mort échelonnée des vers adultes, en association avec l'administration mensuelle de lactones macrocycliques ainsi que l'utilisation de doxycycline, et dans certains cas de glucocorticoïdes (Vörös et al., 2022).

Dès que le diagnostic de dirofilariose cardio-pulmonaire canine est établi chez le chien, il est recommandé d'administrer mensuellement des lactones macrocycliques pendant au moins six mois, afin d'éliminer les vers du cœur âgés de moins de deux mois après l'infection canine, et d'éviter de nouvelles réinfestations. Certaines études ont démontré que les lactones macrocycliques ont un spectre d'action plus large en ayant une efficacité assez élevée contre les vers âgés de trois mois après l'infection canine et une bonne efficacité contre ceux âgés de quatre mois après l'infection canine (Bowman & Drake, 2017)

La doxycycline, un antibiotique de la famille des tétracyclines, a pour objectif de réduire les populations de bactéries endosymbiotiques *Wolbachia*, impliquées dans le développement des vers du cœur ainsi que dans la pathogénèse de la maladie. Lors de la mort des vers du cœur, la libération des bactéries du genre *Wolbachia* induit chez l'hôte une réaction inflammatoire à l'origine de lésions pulmonaires. L'administration de doxycycline permet de diminuer ces réactions inflammatoires, en plus d'une action microfilaricide, adulticide et larvicide (Villeneuve, 2014).

La mélarsomine peut induire des réactions au point d'injection, des vomissements, des diarrhées ainsi que de la nervosité suite à l'administration (Beugnet et al., 2021c). Les glucocorticoïdes et la doxycycline peuvent induire également des troubles gastro-intestinaux. Si ces troubles sont importants, une réduction de posologie de la doxycycline à 5 mg/kg deux fois par jour peut s'avérer nécessaire (Savadelis et al., 2018).

Dans des cas d'infestation canine massive à *D. immitis*, notamment en cas de syndrome caval, le traitement adulticide est trop risqué, il est donc recommandé d'effectuer une extraction chirurgicale des vers du cœur adulte en urgence (Beugnet et al., 2021c).

Tableau 12 : Protocole de traitement de la dirofilariose cardio-pulmonaire canine recommandé par l’American Heartworm Society (2020), modifié selon Vörös et al. (2022)

Jour après le diagnostic	Protocole de traitement recommandé
J0	Restriction exercice physique Si symptômes : prednisone administrée à 1 mg/kg/j la première semaine, puis 0,5 mg/kg/j la deuxième semaine, puis 0,5 mg/kg 1 un jour sur deux pendant deux semaines
J1	Lactone macrocyclique
J1 – J28	Doxycycline 10 mg/kg deux fois par jour pendant 28 jours
J30	Lactone macrocyclique
J60	Lactone macrocyclique Première injection de mélarsomine à 2,5 mg/kg en IM Prednisone pendant 4 semaines (comme ci-dessus)
J90	Lactone macrocyclique Deuxième injection de mélarsomine à 2,5 mg/kg en IM
J91	Troisième injection de mélarsomine à 2,5 mg/kg en IM Prednisone pendant quatre semaines (comme ci-dessus)
J120	Recherche des microfilaires Si test positif : traitement quatre semaines après et retester Programme de prévention à continuer toute l’année selon l’évaluation du risque
J365	Test antigénique neuf mois après la dernière dose adulticide et recherche des microfilaires Si test antigénique positif : retraiter avec doxycycline suivie de deux doses de mélarsomine à 24 heures d’intervalle

III. Lutte antivectorielle et place du pharmacien d'officine dans la lutte contre les maladies canines à transmission vectorielle en France

Les moustiques ainsi que les tiques sont les principaux vecteurs d'agents pathogènes impliqués en santé humaine et animale. Ces arthropodes sont très répandus dans le monde, rendant ainsi difficile la limitation de leur contact avec leurs hôtes, dont les chiens. D'autres arthropodes sont responsables de la transmission d'agents pathogènes chez le chien, comme les puces ou les phlébotomes (Beugnet et al., 2021b). Diverses méthodes de lutte contre ces arthropodes sont possibles, et doivent être menées conjointement, à l'échelle collective et individuelle.

1. Lutte contre les tiques

a. Données générales

Les tiques sont des acariens hématophages comprenant deux familles : les Ixodidés (tiques dures) et les Argasidés (tiques molles). Le principal risque associé aux tiques est la transmission de germes pathogènes lors du repas sanguin. Ce sont les vecteurs les plus impliqués dans la transmission d'agents pathogènes aux animaux, en raison notamment du volume conséquent de leur repas sanguin, du changement d'hôtes entre les repas sanguins pour la plupart des espèces, et de la réalisation de repas sanguins à chaque stade évolutif (Perez-Eid, 2007). Les agents pathogènes persistent chez la tique par des processus de transmission transstadiale et/ou transovarienne, favorisant ainsi l'infection d'une même tique par plusieurs agents pathogènes. Les tiques peuvent transmettre une variété d'agents pathogènes au cours du repas sanguin chez un chien : des protozoaires, des helminthes, des bactéries, des virus. L'éhrlichiose canine (*Ehrlichia canis*), l'anaplasmose canine (*Anaplasma phagocytophilum*), la maladie de Lyme (*Borrelia burgdorferi*) sont des exemples de maladies canines à transmission vectorielle par les tiques (Beugnet et al., 2021b). Une tique peut ainsi transmettre jusqu'à cinq agents pathogènes différents lors d'un même repas sanguin (Vayssier-Taussat, 2016). La lutte antivectorielle s'inscrit dans le cadre de la prophylaxie de l'infection du chien par les agents parasites, et doit être mise en œuvre en premier lieu, avant la nécessité d'instaurer des traitements spécifiques (Coudert & Donas, 2013).

Chez les chiens, la stratégie de lutte contre les tiques repose principalement sur deux approches : la lutte mécanique ainsi que la lutte chimique. Les modifications environnementales consistant à agir sur le biotope des tiques sont également importantes, cependant ces mesures sont complexes, difficiles à mettre en œuvre, et possèdent des taux de réussite variables. Le comblement des fissures, des crevasses, le crépissage des murs, le cimentage des sols, la tonte régulière de l'herbe, le déboisement, ainsi que le débroussaillage sont quelques exemples de mesures permettant d'agir sur le biotope des tiques (Dantas-Torres, 2008).

Le rôle du pharmacien est plus particulièrement axé sur les méthodes de luttés mécanique et chimique contre les tiques, qui seront détaillées dans cette partie.

b. Lutte mécanique

Le retrait manuel des tiques sur les chiens est un moyen simple et efficace de lutte contre la transmission d'agents pathogènes si ce retrait est réalisé le plus précocement possible, car les agents pathogènes nécessitent plusieurs heures pour être transmis (Villeneuve, 2012). Cette méthode nécessite l'inspection minutieuse quotidienne du pelage de l'animal, en particulier lors d'un retour de zones à risques d'infestations, comme les bois, les pâtures d'animaux d'élevages, ou les herbes hautes. L'idéal est d'éviter de promener son chien au sein des zones à risques d'infestations, notamment lors des périodes de pics d'activité des tiques (Vayssier-Taussat, 2016). En cas d'infestations minimales, il est recommandé de retirer manuellement les tiques en utilisant un « crochet à tiques » ou tire tique (O'TOM TICK TWISTER[®], TIRE-TIC[®]). En cas d'infestations massives, ou si le propriétaire estime qu'il n'a certainement pas tout retiré, l'application complémentaire d'un acaricide sous forme de spray, spot-on ou en shampooing est recommandée (Coudert & Donas, 2013).

Le crochet à tiques s'insère sous le corps de la tique en le glissant contre la peau de l'animal et en veillant à ne pas comprimer l'abdomen de la tique. L'opérateur doit ensuite le tourner lentement dans le sens inverse des aiguilles d'une montre, en soulevant très légèrement, jusqu'à ce que la tique se décroche. Il faut veiller à ce que le rostre soit bien retiré. L'application d'un antiseptique sur la plaie est ensuite recommandée, ainsi que la surveillance de la zone de morsure (Jossand, 2016).

L'utilisation de feutres anti-tiques, est également possible pour réaliser le retrait manuel de la tique. Ces dispositifs contiennent une mèche imprégnée d'un agent acaricide, qui s'applique directement sur la tique pendant quelques secondes, permettant son élimination (ANSES - ANMV, 2023).

Des pinces électriques peuvent aussi être utilisées pour tuer les tiques et limiter la transmission d'agents pathogènes. Leur mode d'action repose sur l'utilisation d'un arc électrique qui élimine la tique sur le chien (ANSES - ANMV, 2023).

L'utilisation de la chaleur d'une cigarette, d'éther, ou d'alcool pour le retrait d'une tique n'est pas conseillée car inefficace et augmente le risque de régurgitation de la tique et par conséquent le risque de transmission d'agents pathogènes. L'utilisation d'une pince à épiler est également déconseillée, en raison du risque de régurgitation accru et du risque de laisser le rostre dans la peau de l'animal (Zenner & Drevon-Gaillot, 2003).

c. Lutte chimique

La stratégie de lutte chimique contre l'infestation des chiens par les tiques repose principalement sur l'emploi d'acaricides (Péter & Brossard, 1998). L'application préventive d'acaricides est recommandée chez les chiens fréquemment exposés aux zones à risques de présence de tiques (Zenner & Drevon-Gaillot, 2003). Cependant leur utilisation massive et inappropriée peut être à l'origine de résistances, ainsi que de pollutions environnementales, nécessitant l'élaboration d'approches alternatives.

L'application d'acaricides directement dans l'habitat est recommandée dans de rares cas, lors d'infestations massives à *R. sanguineus*, qui est une tique endophile. Sa forte présence dans les maisons se remarque par la présence de tiques rampantes le long des murs, rideaux, fenêtres, ou sous les meubles. Dans ce cas, l'utilisation de diffuseurs ou de sprays acaricides dans l'habitat est recommandée (TIQUANIS HABITAT®, ECO-LOGIS®) (Dantas-Torres, 2008).

Plusieurs groupes d'acaricides ont été élaborés et mis sur le marché au fil des années. L'élaboration de composés chimiques dotés de nouveaux mécanismes d'action est un moyen de contrer l'apparition progressive de résistances des arthropodes aux antiparasitaires externes disponibles.

Les différents groupes d'antiparasitaires externes diffèrent donc par leur mécanisme d'action, leur rémanence, leur profil pharmacocinétique, leur spectre d'activité, et également par leurs formes pharmaceutiques.

Toutes ces différences sont des éléments à prendre en compte pour le choix d'un antiparasitaire externe chez un chien.

Ces molécules vont principalement agir au niveau du système nerveux des arthropodes.

Plusieurs groupes d'antiparasitaires comprennent des spécialités possédant une AMM en France pour le traitement et pour la prévention des infestations canines par les tiques, ce sont les organophosphorés, les pyréthrinoïdes, les phénylpyrazolés, ainsi que les isoxazolines (Beugnet et al., 2021b).

Les antiparasitaires externes employés chez le chien se présentent sous différentes formes galéniques selon les spécialités pharmaceutiques : sous forme de colliers médicamenteux, de sprays, de shampooings, de poudres externes, de comprimés à croquer, de spot-on ou de line-on (ANSES - ANMV, 2023).

- **Groupes d'antiparasitaires externes employés contre les tiques chez le chien**

- **Organophosphorés**

Les organophosphorés sont un groupe d'antiparasitaires externes, dont le mécanisme d'action repose sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase, qui est une enzyme permettant la dégradation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur stimulant, au sein des synapses de la tique. L'inhibition de cette enzyme induit l'accumulation d'acétylcholine dans les synapses, entraînant ainsi une paralysie spastique par hyperactivité de la tique. Les organophosphorés présentent un large spectre d'action, avec une action sur les acariens (tiques) et les insectes (poux). En France, seul le dimpylate (diazinon) (Figure 30) est actuellement commercialisé sous forme de colliers médicamenteux (PARKAN®) (Tableau 13). La galénique du collier médicamenteux se justifie pour permettre d'augmenter le temps de présence du produit sur le chien, les organophosphorés ayant une faible rémanence, d'environ quelques jours. Les molécules de ce groupe peuvent être à l'origine d'intoxications chez les mammifères, notamment par ingestion du collier, ou de surdosage par le propriétaire, et peuvent ainsi engendrer l'apparition d'un syndrome muscarinique (bradycardie, hypotension, myosis, diarrhée, vomissement, salivation) ainsi que nicotinique (paralysie, asthénie). En cas d'intoxication, l'utilisation d'atropine est réalisable. Les organophosphorés font l'objet de nombreuses résistances partout dans le monde, chez les tiques mais également chez les insectes, ce qui explique les retraits progressifs de ces molécules sur le marché. Ces phénomènes de chimiorésistance peuvent s'expliquer par leur forte utilisation depuis des années, la première commercialisation ayant eu lieu dans les années 1950 (Zenner & Drevon-Gaillot, 2003).

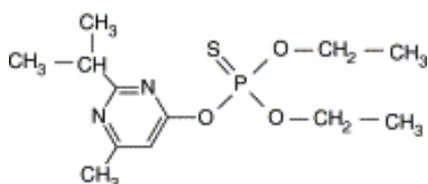


Figure 30 : Structure chimique du dimpylate, selon Beugnet (2004)

- **Pyréthrines et pyréthrinoïdes**

Les pyréthrines sont des composés insecticides et acaricides d'origine naturelle, issus d'extraits de capitules floraux d'une espèce de chrysanthème : *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Dans les années 1950, une première génération de dérivés semi-synthétiques (pyréthrinoïdes) a été obtenue à partir des pyréthrines naturelles, parmi laquelle se trouvent l'alléthrine, la bioalléthrine, et la tétraméthrine. L'inconvénient majeur de ces composés semi-synthétiques quant à leur utilisation en tant qu'antiparasitaire externe, est leur caractère photolabile qui limite leur rémanence à quelques jours. Une seconde

génération de pyréthriinoïdes photostables a été produite une vingtaine d'années plus tard, avec notamment la perméthrine (Figure 31), la deltaméthrine, ou la cyperméthrine. Ces molécules possèdent une meilleure rémanence sur l'animal (Beugnet et al., 2021b).

Leur mécanisme d'action repose sur un déséquilibre des échanges ioniques au niveau des cellules nerveuses des arthropodes, plus précisément en ralentissant la fermeture des canaux sodiques voltage-dépendants et retardant la repolarisation membranaire. Les pyréthriinoïdes agissent également en perturbant les échanges ioniques des ions calcium, chlorure et magnésium au niveau des membranes nerveuses des parasites. Tous ces phénomènes induisent un état d'hyperexcitation, suivi d'une paralysie (état de choc soudain), puis l'apparition de tremblements se traduisant par la mort des insectes et acariens (Beugnet, 2004).

Les pyréthriinoïdes sont des molécules volatiles, permettant d'entraîner un effet répulsif envers les tiques, mais également envers les insectes volants (moustiques, phlébotomes et mouches piqueuses). Cet effet repellent des pyréthriinoïdes présente un intérêt majeur puisque c'est la seule classe d'antiparasitaire externe possédant cet effet, ce qui explique leur présence dans de nombreuses formulations.

Les pyréthriinoïdes sont des molécules peu toxiques pour les mammifères, à l'exception du chat, pour lequel certains composés sont à l'origine de graves intoxications. La sensibilité du chat à certaines pyréthriinoïdes, principalement la perméthrine, s'explique par un déficit physiologique d'une enzyme de glucuroconjugaison permettant la détoxification de ces molécules. Seule la fluméthrine possède une AMM chez le chat sous forme de collier médicamenteux (SERESTO®) (ANSES - ANMV, 2023).

En cas d'intoxication aux pyréthriinoïdes chez le chien, les symptômes les plus fréquemment retrouvés sont des troubles neurologiques (ataxie, tremblements), ainsi que des troubles digestifs (vomissements, diarrhées) (Poletti & Kolf-Clauw, 1998).

Les pyréthriinoïdes sont très toxiques envers les animaux à sang froid tels que les poissons, les reptiles, et les batraciens. Les chiens traités avec les pyréthriinoïdes ne doivent donc pas se baigner dans les cours d'eau (Beugnet et al., 2021b).

Les formules galéniques à base de pyréthriinoïdes utilisées chez le chien pour le traitement et pour la prévention de l'infestation par les tiques sont les colliers médicamenteux, les shampooings, les poudres, les sprays et les spots-on. Ces molécules sont aussi présentes dans des formulations antiparasitaires pour habitat, sous formes de sprays ou de diffuseurs.

Le butoxyde de pipéronyle est un agent synergiste des pyréthriinoïdes, permettant d'augmenter leur rémanence ainsi que leur efficacité. Il agit en inhibant les mécanismes de détoxification oxydative des pyréthriinoïdes chez le parasite, aboutissant ainsi à la potentialisation de ces agents antiparasitaires. Il est présent dans certaines formulations d'antiparasitaires externes (Beugnet et al., 2021b).

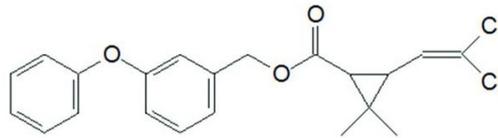


Figure 31 : Structure chimique de la perméthrine, selon Zhan et al. (2018)

– Phénylpyrazolés

Les molécules de ce groupe ont été introduites en médecine vétérinaire dans les années 1990. Actuellement, deux molécules sont utilisées chez les chiens comme antiparasitaires externes : le fipronil (FRONTLINE®) (Figure 32) et le pyriprole (PRAC-TIC®) (Tableau 13). Ces molécules sont présentes dans plusieurs spécialités pharmaceutiques, sous forme de spot-on ou de spray. Les phénylpyrazolés possèdent un large spectre d'action, en ayant notamment une action insecticide (puces, poux) en plus de leur action acaricide envers les tiques (Beugnet et al., 2021b).

Les phénylpyrazolés agissent chez la tique en se liant aux récepteurs du GABA (acide gamma-aminobutyrique) et du glutamate, inhibant la fixation de ces neurotransmetteurs au niveau des récepteurs régulant l'ouverture des canaux chlorure. Les phénylpyrazolés empêchent ainsi l'ouverture des canaux chlorure, provoquant par la suite une hyperexcitation ainsi qu'une paralysie spastique suivie de la mort de la tique (Zenner & Drevon-Gaillot, 2003).

Les phénylpyrazolés sont très spécifiques des récepteurs du GABA et du glutamate présents chez les arthropodes, leur conférant ainsi une sécurité d'action chez les mammifères. En effet, les mammifères ne possèdent pas de canaux chlorure glutamate-dépendants. Les effets indésirables sont donc rares chez le chien (Zenner & Drevon-Gaillot, 2003).

Cependant, ces antiparasitaires externes ne doivent pas être utilisés chez le lapin, car ils peuvent être à l'origine de graves intoxications chez ce dernier, se traduisant par des convulsions, une léthargie, une anorexie, des troubles digestifs et potentiellement la mort. Les mécanismes responsables de la toxicité chez le lapin ne sont pas élucidés. Un bilan rétrospectif des déclarations de pharmacovigilance enregistrées à l'ANSES-ANMV entre 2013 et 2018, a mis en évidence l'implication du fipronil dans 93% des déclarations d'évènements indésirables par antiparasitaires chez le lapin. Pour limiter les intoxications chez le lapin, il est donc recommandé de ne pas utiliser les antiparasitaires réservés aux chiens et/ou aux chats chez le lapin, ainsi que d'éviter le contact des animaux traités par phénylpyrazolés avec les lapins, en les tenant à l'écart en particulier quand le site d'application du médicament n'est pas totalement sec (Jacques & Laurentie, 2021). Ces antiparasitaires sont également toxiques envers les organismes aquatiques.

Ces molécules, très lipophiles, diffusent au sein des structures lipidiques cutanées du chien après l'application, recouvrant l'ensemble du pelage en moins de 24 heures. Elles sont ensuite stockées au niveau des glandes sébacées canines, entraînant par la suite un effet réservoir, permettant le relargage continu de ces substances. La lipophilie de ces molécules explique

leur bonne rémanence, et leur persistance chez des chiens exposés régulièrement à la pluie, ou lavés plus d'une fois par mois. Cependant, ces antiparasitaires nécessitent un film lipidique cutané intact chez le chien, c'est pour cela qu'il est déconseillé de baigner ou de laver l'animal dans les 48 heures précédant l'administration. De même, il n'est pas recommandé de laver ou de baigner l'animal dans les 24 heures après l'administration du produit, afin d'assurer une bonne diffusion de l'antiparasitaire externe.

Les produits antiparasitaires canins sous forme de spray ou spot-on à base de pyriprole ou de fipronil entraînent une mortalité des tiques en moins de 48 heures, et permettent une protection du chien pendant un mois contre les tiques (ANSES - ANMV, 2023).

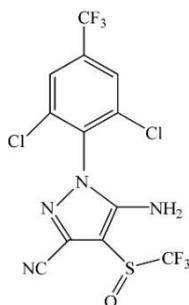


Figure 32 : Structure chimique du fipronil, selon Qiu et al. (2013)

– Isoxazolines

Ces antiparasitaires sont récents, ils ont été introduits en médecine vétérinaire à partir de 2014. Les molécules appartenant à ce groupe sont le fluralaner (BRAVECTO®), l'afoxolaner (Figure 33) (NEXGARD®), le sarolaner (SIMPARICA®) et le lotilaner (CREDELIO®) (Tableau 13). Ces molécules sont présentes dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques sous forme de spot-on ou de comprimés à croquer. Elles agissent de façon systémique, après avoir été ingérées par le chien (comprimés à croquer) ou après un passage transdermique (spot-on). Le spectre d'action des isoxazolines est large : ils possèdent une action insecticide envers les puces ainsi qu'acaricide envers les tiques, mais également envers les agents de la gale démodécique et sarcoptique. Les composés de ce groupe sont fréquemment associés avec d'autres molécules antiparasitaires chez le chien, notamment avec les lactones macrocycliques, permettant ainsi l'obtention de spécialités endectocides ayant une action à la fois sur des parasites internes (helminthes) et des parasites externes (tiques, puces) (SIMPARICA TRIO® : sarolaner, moxidectine et pyrantel) (ANSES - ANMV, 2023).

Les isoxazolines agissent par antagonisme des récepteurs du GABA et du glutamate régulant l'activité des canaux chlorure, avec pour conséquence le blocage du flux d'ions chlorure au travers de la membrane cellulaire, provoquant ainsi une hyperactivité et une paralysie spastique de la tique infestante, aboutissant à sa mort.

Les isoxazolines ont une affinité largement supérieure pour les canaux chlorure GABA-dépendants des arthropodes par rapport à celle présente chez les mammifères, permettant son emploi chez le chien (Beugnet et al., 2021b).

La rémanence des isoxazolines est variable suivant les molécules et les espèces de tiques ciblées :

Le fluralaner (BRAVECTO®) possède la plus longue durée d'action contre les tiques. La forme en comprimés à croquer possède une activité acaricide de 12 semaines sur les espèces de tiques *Ixodes ricinus*, *D. reticulatus*, *Dermacentor variabilis*, et de huit semaines pour *R. sanguineus*. La formulation spot-on possède quant à elle une efficacité pendant 12 semaines contre les tiques *D. reticulatus*, *R. sanguineus*, *I. ricinus*. Le risque de transmission d'agents pathogènes par la tique est ainsi réduit, mais il n'est pas nul, puisqu'elle doit d'abord commencer le repas sanguin avant d'être exposée au fluralaner et mourir en moins de 48 heures (ANSES - ANMV, 2023).

L'afoxolaner (NEXGARD®) tue les tiques en moins de 48 heures et est doté d'une activité acaricide d'un mois envers les tiques. Il agit contre plusieurs espèces de tiques : *D. reticulatus*, *R. sanguineus*, *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *D. variabilis*, *I. scapularis*, *H. longicornis*, *Amblyomma americanum* (ANSES - ANMV, 2023).

Concernant le sarolaner (SIMPARICA®), il cible les espèces : *D. reticulatus*, *R. sanguineus*, *I. hexagonus*, *I. ricinus*. Les tiques meurent en moins de 24 heures, et la durée de l'efficacité anti-tique est de 28 jours sur le chien (ANSES - ANMV, 2023).

Le lotilaner (CREDELIO®) possède le même spectre d'activité que le sarolaner contre les tiques. Il les tue en moins de 48 heures après leur attachement sur le chien, et a une efficacité acaricide d'un mois contre les tiques (ANSES - ANMV, 2023).

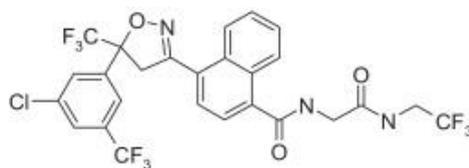


Figure 33 : Structure chimique de l'afoxolaner, selon Shoop et al. (2014)

- Les différentes formules galéniques des antiparasitaires externes employées contre les tiques chez le chien

– Colliers médicamenteux

Les colliers médicamenteux sont des formulations constituées de polymères plastiques, imprégnés d'un ou plusieurs principes actifs antiparasitaires. La libération du principe actif, progressive et continue, est provoquée par les frottements du collier contre la peau du chien. Le principe actif diffuse ensuite sur le chien par l'intermédiaire du film lipidique cutané, la majorité de la dose se concentrant près du collier. L'efficacité du collier n'est pas optimale pour les chiens de grand gabarit ou à longs poils (Zenner & Drevon-Gaillot, 2003). La diffusion du principe actif étant lente, il n'est pas recommandé d'utiliser le collier pour traiter un chien déjà infesté par des tiques. Pour cette même raison, il est également conseillé d'appliquer les produits quelques jours avant l'exposition au risque (Beugnet et al., 2021b). Lors de l'application du collier, il est recommandé de laisser un espace de deux centimètres entre le collier et la peau du chien, puis de bien se laver les mains après la pose. Les propriétaires doivent éviter de dormir avec un chien possédant un collier antiparasitaire, en particulier pour les enfants, en raison de la libération continue du principe actif. Des réactions cutanées sont possibles mais rares suite à la pose du collier, et résolues en quelques jours. Un risque d'intoxication par ingestion est cependant présent avec ce type de dispositif (ANSES - ANMV, 2023).

Cette forme pharmaceutique est particulièrement intéressante pour sa simplicité d'utilisation, ainsi que pour sa longue durée d'action sur le chien, pouvant prodiguer une protection de huit mois envers les tiques (SERESTO®). Cependant, la présence visuelle du collier sur le chien peut induire un risque de mauvaise observance, en effet le propriétaire voyant le collier en continu sur le chien peut ne pas se rendre compte qu'il n'est plus actif.

– Spot-on et line-on

Les spot-on représentent une grande partie des antiparasitaires disponibles chez le chien. Ils sont présentés sous la forme de pipettes destinées à être appliquées sur la peau du chien en un point, au niveau de la nuque entre les omoplates de l'animal, où il ne peut pas se lécher, après avoir bien écarté les poils.

Les line-on doivent être appliqués tout le long de la ligne dorsale après avoir bien écarté les poils du chien, en partant des omoplates jusqu'à la base de la queue. Après l'administration, le lavage des mains est recommandé.

Les spot-on peuvent agir de deux façons différentes, en ayant soit un effet systémique après passage transdermique du principe actif qui se retrouve dans le sang du chien, soit un effet de surface par diffusion au niveau du film lipidique cutané, et stockage au niveau des glandes sébacées. Les line-on disponibles sur le marché agissent exclusivement par effet de surface.

La diffusion est rapide au niveau du film lipidique de surface, nécessitant quelques heures, et la rémanence de ces formulations, généralement plusieurs semaines, est bonne.

Il est conseillé de ne pas laver ni de baigner le chien dans les 48 heures qui précèdent et qui suivent l'administration, afin de ne pas altérer le film hydrolipidique de surface nécessaire à la bonne diffusion du produit. La réalisation de shampooings réguliers après l'administration altère la rémanence du produit chez le chien. De plus, il n'est pas recommandé de manipuler l'animal lorsque la zone d'application n'est pas entièrement sèche, en particulier par les enfants. L'application du produit se fera donc de préférence le soir. Ils devront également être séparés des autres animaux du foyer le temps que le produit sèche (ANSES - ANMV, 2023).

– **Sprays**

Les sprays sont des formulations permettant la projection de particules de principes actifs sur le chien. Cette forme est facile d'emploi pour le propriétaire, et est intéressante en cas d'infestations massives par des tiques, notamment pour sa rapidité d'action (Beugnet et al., 2021b). Cependant la majorité des sprays possèdent une faible rémanence, et sont à l'origine d'une perte importante de principes actifs, se retrouvant sur le pelage de l'animal et non au niveau de la peau de ce dernier. Il est recommandé de porter des gants lors de l'administration, de pulvériser à rebrousse-poil à 10 ou 20 centimètres du chien, dans un local aéré, en évitant les zones de peau lésées et le contact avec les yeux ou le museau du chien. Lorsque l'animal n'est pas sec, il faut éviter tout contact avec, et l'isoler des autres animaux du foyer, l'administration s'effectuant de préférence en soirée. Le lavage des mains du propriétaire après l'administration est préconisé (ANSES - ANMV, 2023).

– **Comprimés à croquer**

Les comprimés à croquer, dotés d'un appétant, sont des formes faciles d'administration pour le propriétaire. Ils agissent par effet systémique, et certaines spécialités ont une longue durée d'action, potentiellement de 12 semaines pour le BRAVECTO®. Leur usage est intéressant, notamment chez les chiens fréquemment lavés ou baignés, mais également pour diminuer le risque de contact entre les principes actifs et les propriétaires, en particulier les enfants. L'inconvénient de leur utilisation repose sur le fait que les tiques doivent effectuer leur repas sanguin pour être exposées au principe actif, la transmission d'agents pathogènes ne pouvant donc être totalement exclue (Beugnet et al., 2021b).

– **Shampoings**

Les shampoings sont des solutions ou suspensions aqueuses, comprenant des agents tensioactifs permettant le lavage de l'animal ainsi qu'un ou plusieurs principes actifs antiparasitaires (Zenner & Drevon-Gaillot, 2003). Ces formes pharmaceutiques sont dépourvues de rémanence, ce qui limite leur utilisation au traitement des infestations des tiques déjà présentes. Leur application s'effectue sur un pelage préalablement mouillé, par fractionnement sur l'ensemble du corps du chien en évitant les yeux. Le rinçage du shampoing et le séchage interviennent après un temps de pose d'environ deux minutes. Il est conseillé au propriétaire de porter des gants durant l'administration et de bien se laver les mains à la fin (ANSES - ANMV, 2023).

– **Poudres externes**

Les poudres sont des antiparasitaires possédant une très faible rémanence, indiquées pour le traitement des infestations par les tiques. L'administration se fait à rebrousse-poil dans un local aéré, tout en brossant le pelage du chien pour un meilleur contact avec la peau. L'application de façon uniforme sur le chien n'est pas aisée, en particulier chez les chiens à poils longs (Zenner & Drevon-Gaillot, 2003). Après l'administration, l'excès de poudre peut être retiré en brossant l'animal. Il faut veiller à ne pas exposer les yeux ou le museau du chien au principe actif. Le port de gant est recommandé durant l'administration, et le lavage des mains est essentiel pour le propriétaire après l'administration.

2. Lutte contre les moustiques

Les moustiques font partie des vecteurs les plus impliqués dans la transmission d'agents pathogènes chez le chien, tels que *D. repens* ou *D. immitis* (Beugnet et al., 2021b). La prophylaxie des maladies canines à transmission vectorielle par les moustiques est principalement permise par des méthodes de luttés chimique et mécanique anti-moustiques.

a. Lutte mécanique

Les mesures permettant la lutte mécanique consistent en l'élimination des potentiels gîtes larvaires des Culicidés, à savoir les milieux susceptibles de contenir de l'eau stagnante. Concrètement, cela consiste à renverser, nettoyer, supprimer ou ne pas exposer à la pluie des éléments comme des pots de fleurs, des pneus, arrosoirs, bacs, citernes, poubelles ou des brouettes (Barré-Cardi, 2014). De plus, il est préférable que les réserves d'eau soient recouvertes par des grillages moustiquaires (Delaunay et al., 2001). Les méthodes de lutte mécanique contre les Culicidés visent également à limiter le contact entre les chiens et les moustiques, en particulier lors des périodes de fortes activités des moustiques (Duvallet & Chabasse, 2020). Pour cela, les propriétaires doivent éviter de faire dormir le chien à l'extérieur, et éviter les promenades le soir le long des plans d'eau, la majorité des piqûres ayant principalement lieu en début de soirée et pendant la nuit. La mise en place de moustiquaires pour protéger l'habitation est également conseillée lors des périodes à risques.

b. Lutte chimique

Les méthodes chimiques de contrôle des infestations canines par les moustiques sont basées sur l'application régulière d'antiparasitaires externes répulsifs contre les moustiques. Parmi les antiparasitaires externes à appliquer chez le chien, seulement quelques molécules sont dotées de ce potentiel répellent envers les moustiques : la deltaméthrine et la perméthrine (Beugnet et al., 2021b). Ces molécules, faisant parties du groupe des pyréthriinoïdes, agissent en inhibant le gorgement des moustiques. Plusieurs spécialités pharmaceutiques présentent des pyréthriinoïdes pour cet effet répellent envers les moustiques, dont certaines sont constituées d'associations avec d'autres molécules pour compléter leur spectre d'action antiparasitaire. Par exemple, ADVANTIX® est une formule en spot-on à base d'imidaclopride et de perméthrine, doté d'un effet répellent envers les moustiques allant de deux semaines (*Aedes aegypti*) à quatre semaines (*Culex pipens*). SCALIBOR® est un collier médicamenteux ayant une action répulsive envers les moustiques (*Culex pipiens*) de six mois (ANSES - ANMV, 2023).

3. Place du pharmacien d'officine dans la lutte contre les maladies canines à transmission vectorielle

Etant autorisé à dispenser aux propriétaires canins des produits antiparasitaires, le pharmacien joue un rôle clef dans la lutte contre les maladies infectieuses vectorielles du chien. Pour que le pharmacien dispense le produit antiparasitaire le plus adapté au chien concerné, il devra obtenir un maximum d'informations via son échange avec le propriétaire, en se basant sur les différents critères de choix des antiparasitaires externes.

Les critères de choix des antiparasitaires externes comprennent notamment la formule galénique, le spectre d'activité, l'âge et le poids du chien, le mode de vie du chien, la rémanence de l'activité, les éventuelles contre-indications, la toxicité envers d'autres espèces vivant au même domicile, ainsi que le prix des différentes spécialités (Beugnet et al., 2021b).

Le pharmacien devra veiller à ce qu'il n'y ait aucune contre-indication d'utilisation du produit chez le chien, notamment en termes d'âge et de poids minimum d'utilisation, mais également en termes de gestation ou de lactation (Tableau 13).

Certains produits, tels que les lactones macrocycliques (milbémycine oxime, moxidectine, sélamectine), doivent être utilisés avec précautions chez les chiens à risques de mutation du gène MDR-1, tels que les Colleys, en raison d'une marge de sécurité plus faible chez ces chiens (ANSES - ANMV, 2023).

D'autres produits peuvent présenter une toxicité envers certaines espèces animales. C'est notamment le cas de la perméthrine, toxique pour les chats, reptiles, batraciens et poissons. Le fipronil peut être à l'origine d'intoxications chez le lapin (Jacques & Laurentie, 2021). Il est donc important pour le pharmacien de rappeler les précautions d'utilisation des différents produits, notamment en termes de restriction de contact du chien traité avec les différentes espèces sensibles ou de restriction de baignade dans les cours d'eau.

Les différentes formules galéniques disponibles permettent de faciliter l'administration des antiparasitaires externes chez les chiens. Le pharmacien doit s'assurer de la bonne compréhension du mode d'utilisation de ces produits par le propriétaire, notamment en ce qui concerne le lavage des mains après l'administration ainsi que le port de gants (Zenner & Drevon-Gaillot, 2003).

L'index des médicaments vétérinaires autorisés en France est un outil intéressant pour le pharmacien. Facilement accessible sur internet (lien : <http://www.ircp.anmv.anses.fr>), il met à disposition du public l'ensemble des Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) et des Rapports Publics d'Evaluation (RPE) des différents médicaments vétérinaires disponibles sur le territoire français (sauf pour ceux ayant fait l'objet d'une procédure centralisée) (ANSES - ANMV, 2023).

D'un point de vue réglementaire, les produits antiparasitaires externes utilisés chez le chien sont considérés comme des médicaments vétérinaires. Les médicaments vétérinaires sont définis par l'article 4 du règlement (UE) 2019/6 du 11 Décembre 2018 comme étant « toute substance ou association de substances qui remplit au moins l'une des conditions suivantes :

elle est présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies animales ; elle a pour but d'être utilisée chez l'animal ou de lui être administrée en vue de restaurer, de corriger ou de modifier des fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique ; elle a pour but d'être utilisée sur des animaux en vue d'établir un diagnostic médical ; elle a pour but d'être utilisée pour l'euthanasie d'animaux » (*Règlement (UE) 2019/6 du Parlement européen et du Conseil du 11 décembre 2018 relatif aux médicaments vétérinaires et abrogeant la directive 2001/82/CE, 2018*).

Plus précisément, les antiparasitaires sont une famille de médicaments vétérinaires et sont définis par l'article 4 du règlement (UE) 2019/6 du 11 Décembre 2018, comme « substance qui tue les parasites ou empêche leur développement, utilisée en vue de traiter ou de prévenir une infection, une infestation ou une maladie causée ou transmise par des parasites, y compris des substances ayant des propriétés répulsives » (*Règlement (UE) 2019/6 du Parlement européen et du Conseil du 11 décembre 2018 relatif aux médicaments vétérinaires et abrogeant la directive 2001/82/CE, 2018*).

L'article 4 du règlement (UE) 2019/6 du 11 Décembre 2018 a été intégré à l'article L. 5141-2 du code de la santé publique (CSP) par l'ordonnance n°414 du 23 Mars 2022, pour permettre une adaptation du droit national aux dispositions européennes (*Légifrance, 2023a*).

Les médicaments vétérinaires sont soumis à une réglementation spécifique, en effet ils doivent posséder une AMM préalable à leur commercialisation. L'AMM pour le médicament vétérinaire peut être délivrée par deux structures différentes, soit par l'ANSES - ANMV soit par l'EMA en cas de procédure centralisée. L'ANMV est une branche de l'ANSES, elle permet l'obtention de l'AMM des médicaments vétérinaires lorsque le rapport bénéfice/risque est favorable. L'ANMV possède plusieurs autres missions, telles que la surveillance continue des médicaments vétérinaires en termes d'effets indésirables (pharmacovigilance), de qualité, ou de publicité (Rostang et al., 2022).

L'ANMV est chargée de la pharmacovigilance vétérinaire, en effet elle doit surveiller, évaluer, détecter et prévenir l'apparition d'effets indésirables des médicaments vétérinaires ainsi que des médicaments humains à usage vétérinaire. Pour cela, l'ANMV évalue et enregistre les déclarations d'effets indésirables qui lui sont transmises au sein de bases françaises et européennes de pharmacovigilance. Les vétérinaires, à l'origine de 90,8% des déclarations en 2016, sont les principaux acteurs de cette pharmacovigilance, les pharmaciens et les propriétaires d'animaux étant également impliqués, mais dans une moindre mesure (Laurentie, 2018). Par ailleurs, le pharmacien est soumis à l'obligation de déclaration de tout effet indésirable dont il a eu la connaissance, susceptible d'être dû à un médicament. Ainsi, tout pharmacien ayant eu connaissance d'un effet indésirable susceptible d'être lié à un médicament vétérinaire doit en faire la déclaration à l'ANSES-ANMV ou au Centre de Pharmacovigilance Vétérinaire de Lyon (CPVL). Il existe plusieurs manières de déclarer les effets indésirables d'un médicament vétérinaire, en effet la déclaration peut se faire par télédéclaration sur le site dédié de l'ANMV : <https://pharmacovigilance-anmv.anses.fr>, mais elle peut également être réalisée par transmission d'un formulaire de déclaration (téléchargeable sur <https://pharmacovigilance-anmv.anses.fr>) directement au CPVL

(Laurentie, 2018). Le champ d'action de la pharmacovigilance vétérinaire concerne les effets indésirables survenant chez les animaux liés aux médicaments vétérinaires et aux médicaments humains à usage vétérinaire, mais elle comprend également les effets indésirables survenant chez les humains liés aux médicaments vétérinaires, les suspicions de manque d'efficacité, ainsi que les problèmes environnementaux liés aux médicaments vétérinaires (Fresnay, 2018).

La réglementation du médicament vétérinaire prévoit, selon l'article L. 5143-2 du CSP, l'exclusivité de la délivrance au détail des médicaments vétérinaires à certains ayants droit : les pharmaciens, les vétérinaires, ainsi que les groupements agréés d'éleveurs sous certaines conditions. Les vétérinaires sont à l'origine de 79% environ des délivrances médicamenteuses aux animaux en 2020 en France, contre 6% environ pour les pharmaciens et 15 % pour les groupements (Rostang et al., 2022). Les vétérinaires ne sont pas autorisés à tenir « officine ouverte ». Ils sont autorisés à délivrer les médicaments uniquement aux « animaux auxquels ils donnent personnellement des soins ou dont la surveillance sanitaire et les soins leurs sont régulièrement confiés », selon l'article L.5143-2 du CSP. Cependant, toujours selon l'article L.5143-2 du CSP, les « produits antiparasitaires destinés au traitement externe des animaux de compagnie, à l'exception de ceux qui sont soumis à prescription obligatoire d'un vétérinaire ou dont l'AMM indique, qu'ils ne sont pas à appliquer en l'état sur l'animal » font exception à cette règle (*Légifrance*, 2023b). En effet, ces médicaments peuvent être commercialisés dans des grandes et moyennes surfaces, des animaleries, des jardineries, des salons de toilettage ou encore des sites de vente en ligne. Selon une enquête de la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF), le dispositif de pharmacovigilance est largement méconnu par ces distributeurs (DGCCRF, 2016).

Le pharmacien possède un rôle essentiel dans la sécurisation du médicament vétérinaire, qu'il peut affirmer par sa connaissance précise des différents antiparasitaires externes ou bien par sa connaissance et sa participation au système de pharmacovigilance vétérinaire et son devoir de déclarer tout effet indésirable lui parvenant.

Tableau 13 : Caractéristiques de certaines spécialités utilisées en tant qu'antiparasitaires externes chez le chien en France, selon ANSES - ANMV (2023)

Groupe antiparasitaire	Molécule(s)	Spécialité pharmaceutique	Forme pharmaceutique	Efficacité anti-tiques	Répulsion moustiques	Age et poids minimum	Femelle gestante	Femelle allaitante	Soumis à prescription vétérinaire
Organophosphorés	Dimpylate	PARKAN®	Collier médicamenteux	3 mois	Non	3 mois	Non recommandé		Non
Pyréthrinoïdes	Perméthrine + Imidaclopride	ADVANTIX®	Spot-on	3 à 4 semaines	2 à 4 semaines	7 semaines et 1,5 kg	Oui		Non
	Perméthrine + Pyriproxyfène	DUOWIN CONTACT®	Line-on	4 semaines	Non	2 mois et 2 kg	Non recommandé		
	Fluméthrine + Imidaclopride	SERESTO®	Collier médicamenteux	8 mois	Non	7 semaines	Non recommandé		
	Perméthrine	PULVEX®	Shampooing	Pas de rémanence	Non	2 mois	Oui		
	Deltaméthrine	SCALIBOR®	Collier médicamenteux	6 mois	6 mois	7 semaines	Non	Oui	
	Tétraméthrine	SETRIC®	Poudre externe	Pas de rémanence	Non	2 mois	Pas de donnés		
Phénylpyrazolés	Fipronil	FRONTLINE®	Spot-on	1 mois	Non	8 semaines et 2 kg	Oui		Non
		FRONTLINE®	Spray	30 jours		2 jours	Pas de données	Oui	
	Pyriprole	PRAC-TIC®	Spot-on	28 jours		8 semaines et 2 kg	Oui		
Isoxazolines	Fluralaner	BRAVECTO®	Spot-on Comprimés	8 à 12 semaines 12 semaines	Non	8 semaines et 2 kg	Oui	Oui	Oui
	Afoxolaner	NEXGARD®	Comprimés	1 mois			Pas de données		
	Sarolaner	SIMPARICA®	Comprimés	5 semaines		Pas de données			
	Lotilaner	CREDELIO®	Comprimés	1 mois		8 semaines et 1,3 kg	Pas de données		

Conclusion

La babésiose et la dirofilariose canines sont des maladies canines à transmission vectorielle en pleine émergence.

La progression de ces maladies, notamment au cours des dernières décennies, est corrélée à différents facteurs. Parmi ces derniers, les échanges commerciaux, les aménagements humains, les changements environnementaux avec le réchauffement climatique, favorisent l'expansion géographique ainsi que l'augmentation des populations de vecteurs de ces maladies : les tiques et les moustiques.

Ces deux maladies canines possèdent un fort pouvoir pathogène, dont l'issue peut être fatale pour le chien. De plus, les traitements curatifs sont bien souvent coûteux et non dénués de risque pour l'animal.

Ainsi, la mise en place de mesures prophylactiques centrées sur la lutte contre les vecteurs représente la principale stratégie à mettre en œuvre pour le contrôle des maladies canines à transmission vectorielle.

Le pharmacien d'officine est un acteur essentiel de la lutte contre les maladies canines à transmission vectorielle du fait de sa connaissance des médicaments antiparasitaires qu'il est autorisé à délivrer, ainsi que par sa proximité avec les propriétaires canins. Il est de ce fait indispensable pour le pharmacien de cerner ainsi que de proposer le produit antiparasitaire le plus adapté aux besoins du propriétaire canin et aux caractéristiques de l'animal. Il doit également, lors de la délivrance, expliquer le bon mode d'administration, l'importance de l'observance ainsi que les différentes précautions d'emploi des médicaments délivrés.

Dans le but de renforcer ce rôle central du pharmacien dans la lutte contre les arthropodes hématophages susceptibles de transmettre des agents infectieux chez le chien, il est nécessaire de s'assurer que les pharmaciens ont un niveau d'expertise suffisant sur les médicaments vétérinaires et sur les différentes maladies canines à transmission vectorielle. Plusieurs voies pourraient être envisagées pour renforcer les connaissances pharmaceutiques en pharmacie vétérinaire. L'une d'elle consisterait à renforcer la formation initiale, en augmentant le volume horaire dédié à ces thèmes qui pourraient ainsi être approfondis, mais également en permettant l'intervention éventuelle de praticiens vétérinaires. Cela serait particulièrement intéressant lors de la sixième année officinale. Une deuxième possibilité serait de favoriser, dans le cadre du développement professionnel continu, des formations axées sur la pharmacie vétérinaire, afin de pérenniser l'expertise du pharmacien dans ce domaine.

Résumé

La babésiose canine est une maladie due à des parasites protozoaires du genre *Babesia*, transmis par certaines espèces de tiques dures. Plusieurs espèces de *Babesia* peuvent être responsables de babésiose canine, chaque espèce ayant des caractéristiques qui lui sont propres, notamment en termes d'espèces de tiques vectrices, de distribution géographique ou de potentiel pathogène. La babésiose canine est une parasitose cosmopolite, dont la répartition est fortement corrélée à la dynamique de distribution des vecteurs. Le diagnostic de l'espèce de *Babesia* impliquée dans l'infection est essentiel, en effet, il permet de déterminer la stratégie thérapeutique à mettre en place chez le chien. La prophylaxie de la babésiose repose principalement sur la lutte contre l'infestation des chiens par les tiques. Une chimioprophylaxie peut être également réalisée pour des chiens immunodéprimés en zones endémiques. Un vaccin existe, cependant il possède une efficacité variable et n'empêche pas l'invasion parasitaire chez le chien.

D. immitis est un parasite nématode responsable de la dirofilariose cardio-pulmonaire canine, nommée « maladie des vers du cœur ». Sa transmission aux chiens s'effectue par piqûre de certaines espèces de moustiques. C'est une pathologie cosmopolite, dont la répartition est influencée par un certain nombre de facteurs, notamment par la dynamique de distribution des vecteurs Culicidés. Les signes cliniques sont principalement causés par la localisation des vers de *D. immitis* au niveau des artères pulmonaires du chien. L'évolution clinique est progressive, et est susceptible d'aboutir au décès du chien par détresse respiratoire. La prophylaxie repose principalement sur la lutte contre les moustiques vecteurs, éventuellement en association à la chimioprophylaxie à base de lactone macrocyclique au sein des zones endémiques. Le traitement repose sur l'utilisation de molécules comme la mélarsomine, présentant des effets indésirables majeurs. Les mesures prophylactiques sont donc particulièrement recommandées.

Ces deux maladies canines à transmission vectorielle sont émergentes. Les vecteurs étant sensibles aux conditions climatiques, le réchauffement climatique influence la distribution des populations de vecteurs et favorise par conséquent l'expansion des agents étiologiques de ces deux maladies canines à transmission vectorielle.

Dans ce contexte, le rôle du pharmacien dans la lutte antivectorielle chez le chien, en tant qu'ayant-droit du médicament vétérinaire, sera probablement amené à se renforcer. Son expertise dans ce domaine, sa connaissance du système de pharmacovigilance vétérinaire, ainsi que sa proximité avec les propriétaires de chien(s) sont des éléments légitimant et valorisant sa place dans la lutte antivectorielle chez le chien.

Mots clefs

Babésiose, *Babesia* sp., Dirofilariose, *Dirofilaria immitis*, Chien, Lutte antivectorielle, Pharmacie vétérinaire, Tique, Moustique, Officine



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances,

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement,

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité,

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession,

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens,

De coopérer avec les autres professionnels de santé.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Signature de l'étudiant

Nom :

Prénom :

du Président du jury

Nom :

Prénom :

Bibliographie

- AbouLaila, M., AbdEl-Aziz, A., Menshawy, S., Salama, A., Mady, R., Yokoyama, N., & Igarashi, I. (2019). Evaluation of the in vitro and in vivo inhibitory effects of enrofloxacin on the growth of Babesia species and Theileria equi. *Drug Drug Abuse*, 1, 2-6.
- Adachi, K., Ueno, C., & Makimura, S. (1993). Immunosuppression in dogs naturally infected with Babesia gibsoni. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 55(3), 503-505.
<https://doi.org/10.1292/jvms.55.503>
- Adamu, M., Troskie, M., Oshadu, D. O., Malatji, D. P., Penzhorn, B. L., & Matjila, P. T. (2014). Occurrence of tick-transmitted pathogens in dogs in Jos, Plateau State, Nigeria. *Parasites & Vectors*, 7(1), 119. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-119>
- Adaszek, L., Lyp, P., Poblocki, P., Skrzypczak, M., Mazurek, L., & Winiarczyk, S. (2018). The first case of Babesia gibsoni infection in a dog in Poland. *Veterinárni Medicína*, 63 (2018)(No. 5), 225-228. <https://doi.org/10.17221/155/2017-VETMED>
- Adebayo, O., Akande, A., & Adenubi, O. (2020). Canine Dirofilariasis : A Case Report and Review of the Literature. *Folia Veterinaria*, 64, 75-81. <https://doi.org/10.2478/fv-2020-0029>
- Agoulon, A., Butet, A., Hoch, T., Perez, G., Plantard, O., Verheyden, H., & Vourc'h, G. (2017). Dynamique des populations de tiques et liaison avec les facteurs environnementaux. In N. Boulanger & K. D. McCoy (Éds.), *Tiques et maladies à tiques : Biologie, écologie évolutive, épidémiologie* (p. 85-112). IRD Éditions.
<http://books.openedition.org/irdeditions/9027>
- Al-Shaalan, N. H., Jeehan Nasr, J., Shalan, S., & El-Mahdy, A. M. (2022). Use of green-modified micellar liquid chromatography for the determination of Imidocarb dipropionate residues in food samples. *Microchemical Journal*, 178, 107316.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107316>

American Heartworm Society. (2020). Lignes directrices sur la dirofilariose.

<https://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/american-heartworm-society-guidelines>

Andersson, M. O., Tolf, C., Tamba, P., Stefanache, M., Waldenström, J., Dobler, G., &

Chițimia-Dobler, L. (2017). Canine tick-borne diseases in pet dogs from Romania.

Parasites & Vectors, *10*(1), 155. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2092-x>

Annoscia, G., Latrofa, M. S., Cantacessi, C., Olivieri, E., Manfredi, M. T., Dantas-Torres, F., &

Otranto, D. (2017). A new PCR assay for the detection and differentiation of *Babesia canis* and *Babesia vogeli*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *8*(6), 862-865.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.07.002>

ANSES - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. (2022, septembre 30). Actualisation PIRODOG.

<https://www.anses.fr/fr/content/actualisation-pirodog>

ANSES - ANMV. (2023). Index des RCP. <http://www.ircp.anmv.anses.fr/results.aspx>

ANSES—Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. (2020). RCP CARBESIA.

<http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=CARBESIA>

Anvari, D., Narouei, E., Daryani, A., Sarvi, S., Moosazadeh, M., Ziaei Hezarjaribi, H., Narouei,

M. R., & Gholami, S. (2020). The global status of *Dirofilaria immitis* in dogs : A systematic review and meta-analysis based on published articles. *Research in*

Veterinary Science, *131*, 104-116. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.002>

Anzulović Šanta, Ž., Beck, R., Huber, D., Antolić, M., & Beck, A. (2015). *Genotyping of*

piroplasms detected in canine stained peripheral blood smears and postmortem tissue imprints.

- Avery, M. A., Weldon, D. J., & Muraleedharan, K. M. (2016). Drugs for Parasitic Infections : Advances in the Discovery of New Antimalarials. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.11056-X>
- Ayoob, A. L., Hackner, S. G., & Prittie, J. (2010). Clinical management of canine babesiosis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20(1), 77-89.
<https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00489.x>
- Baneth, G. (2018a). Antiprotozoal treatment of canine babesiosis. *Veterinary Parasitology*, 254. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.03.001>
- Baneth, G. (2018b). Babesia of Domestic Dogs. In *Parasitic Protozoa of Farm Animals and Pets* (p. 241-258). https://doi.org/10.1007/978-3-319-70132-5_10
- Baneth, G., Cardoso, L., Brilhante-Simões, P., & Schnittger, L. (2019). Establishment of *Babesia vulpes* n. sp. (Apicomplexa : Babesiidae), a piroplasmid species pathogenic for domestic dogs. *Parasites & Vectors*, 12(1), 129. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3385-z>
- Baneth, G., Florin-Christensen, M., Cardoso, L., & Schnittger, L. (2015). Reclassification of *Theileria annae* as *Babesia vulpes* sp. Nov. *Parasites & Vectors*, 8, 207.
- Barash, N., Thomas, B., Birkenheuer, A., Breitschwerdt, E., Lemler, E., & Quorollo, B. (2019). Prevalence of *Babesia* spp. And clinical characteristics of *Babesia vulpes* infections in North American dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33.
<https://doi.org/10.1111/jvim.15560>
- Barré-Cardi, H. (2014). Les Risques Sanitaires Liés Aux Moustiques En Corse. *Collection Corse d'hier et de demain, Corse*, 5, 13-26.
- Basset, D., & Sauguet, P. (2016). *Dirofilaria* et dirofilarioses. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2016(483), 37-44. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(16\)30198-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(16)30198-8)

- Beck, R., Vojta, L., Mrljak, V., Marinculic, A., Beck, A., Zivicnjak, T., & Cacciò, S. (2009). Diversity of Babesia and Theileria species in symptomatic and asymptomatic dogs in Croatia. *International journal for parasitology*, 39, 843-848.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.12.005>
- Belimenko, V., Gulyukin, A., Khristianovsky, P., Novosad, E., & Shabeykin, A. A. (2019). Effect of Enrofloxacin for treatment of bovine anaplasmosis and canine babesiosis. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 315, 042016.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/315/4/042016>
- Bendas, A. J. R., Mendes-de-Almeida, F., Guerrero, J., & Labarthe, N. (2017). Update on *Dirofilaria immitis* epidemiology in South America and Mexico : Literature review. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*, 54(4), 319-329.
- Berzina, I., Capligina, V., Baumanis, V., Ranka, R., Cirule, D., & Matise, I. (2013). Autochthonous canine babesiosis caused by *Babesia canis canis* in Latvia. *Veterinary Parasitology*, 196(3), 515-518. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.015>
- Beugnet, F. (2004). Antiparasitaires externes chez les carnivores domestiques. *EMC - Vétérinaire*, 1(4), 138-153. <https://doi.org/10.1016/j.emcvet.2004.05.002>
- Beugnet, F., Miro, G., Halos, L., & Guillot, J. (2021a). Annexes. In *Abrégé de parasitologie clinique du chien et du chat*.
- Beugnet, F., Miro, G., Halos, L., & Guillot, J. (2021b). Antiparasitaires externes. In *Abrégé de parasitologie clinique du chien et du chat*.
- Beugnet, F., Miro, G., Halos, L., & Guillot, J. (2021c). Parasitoses respiratoires et cardio-vasculaires. In *Abrégé de parasitologie clinique du chien et du chat*.
- Bilić, P., Kuleš, J., Rafaj, R., & Mrljak, V. (2018). Canine Babesiosis : Where Do We Stand? *Acta Veterinaria*, 68, 127-160. <https://doi.org/10.2478/acve-2018-0011>

- Birkenheuer, A. J., Levy, M. G., & Breitschwerdt, E. B. (2003). Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. *Journal of Clinical Microbiology*, *41*(9), 4172-4177. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.9.4172-4177.2003>
- Birkenheuer, A. J., Levy, M. G., & Breitschwerdt, E. B. (2004). Efficacy of Combined Atovaquone and Azithromycin for Therapy of Chronic *Babesia gibsoni* (Asian Genotype) Infections in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *18*(4), 494-498. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02573.x>
- Bitonti, A. J., Dumont, J. A., & McCann, P. P. (1986). Characterization of *Trypanosoma brucei* *brucei* S-adenosyl-L-methionine decarboxylase and its inhibition by Berenil, pentamidine and methylglyoxal bis(guanylhydrazone). *The Biochemical Journal*, *237*(3), 685-689. <https://doi.org/10.1042/bj2370685>
- Böhm, M., Leisewitz, A. L., Thompson, P. N., & Schoeman, J. P. (2006). Capillary and venous *Babesia canis rossi* parasitaemias and their association with outcome of infection and circulatory compromise. *Veterinary Parasitology*, *141*(1), 18-29. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.05.002>
- Bonnet, S., Huber, K., Joncour, G., René-Martellet, M., Stachurski, F., & Zenner, L. (2017). Biologie des tiques. In N. Boulanger & K. D. McCoy (Éds.), *Tiques et maladies à tiques : Biologie, écologie évolutive, épidémiologie* (p. 53-84). IRD Éditions. <http://books.openedition.org/irdeditions/9020>
- Boozer, A. L., & Macintire, D. K. (2003). Canine babesiosis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, *33*(4), 885-904, viii. [https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(03\)00039-1](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(03)00039-1)
- Boreham, P. F. L. (2018). *Dirofilariasis*. CRC Press.

- Borthakur, S. K., Deka, D. K., Bhattacharjee, K., & Sarmah, P. C. (2014). Seroprevalence of canine dirofilariosis, granulocytic anaplasmosis and lyme borreliosis of public health importance in dogs from India's North East. *Veterinary World*, 7(9), 665-667.
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.665-667>
- Boulanger, N., & Lipsker, D. (2015). Protection contre les piqûres de tiques. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 142(4), 245-251.
<https://doi.org/10.1016/j.annder.2014.11.018>
- Bowman, D. D., & Atkins, C. E. (2009). Heartworm Biology, Treatment, and Control. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 39(6), 1127-1158.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.06.003>
- Bowman, D. D., & Drake, J. (2017). Examination of the “susceptibility gap” in the treatment of canine heartworm infection. *Parasites & Vectors*, 10(2), 513.
<https://doi.org/10.1186/s13071-017-2433-9>
- Bringmann, G., Fayez, S., Shamburger, W., Feineis, D., Winiarczyk, S., Janecki, R., & Adaszek, Ł. (2020). Naphthylisoquinoline alkaloids and their synthetic analogs as potent novel inhibitors against *Babesia canis* in vitro. *Veterinary Parasitology*, 283, 109177.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109177>
- Camacho, A. T., Pallas, E., Gestal, J. J., Guitián, F. J., Olmeda, A. S., Telford, S. R., & Spielman, A. (2003). *Ixodes hexagonus* is the main candidate as vector of *Theileria annae* in northwest Spain. *Veterinary Parasitology*, 112(1), 157-163.
[https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00417-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00417-X)
- Carret, C., Walas, F., Carcy, B., Grande, N., Précigout, É., Moubri, K., Schetters, T. P., & Gorenflot, A. (1999). *Babesia Canis Canis*, *Babesia Canis Vogeli*, *Babesia Canis Rossi* : Differentiation of the Three Subspecies By A Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis On Amplified Small Subunit Ribosomal Rna Genes. *The*

Journal of Eukaryotic Microbiology, 46(3), 298-301. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1999.tb05128.x>

- Chabaud, A. G., & Anderson, R. C. (1959). Nouvel essai de classification des Filaires (Superfamille des Filarioidea) II. 1959. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 34(1-2), 64-87.
- Chakraborty, A. (2016). Understanding the biology of the Plasmodium falciparum apicoplast; an excellent target for antimalarial drug development. *Life Sciences*, 158, 104-110. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.06.030>
- Chao, L.-L., Liao, H.-T., Ho, T.-Y., & Shih, C.-M. (2017). First detection and molecular identification of Babesia gibsoni from Rhipicephalus sanguineus ticks. *Acta Tropica*, 166, 356-362. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.09.022>
- Checa, R., López-Beceiro, A., Montoya, A., Barrera, J., Ortega, N., Gálvez, R., Marino, V., González, J., Olmeda, A., Fidalgo, L., & Miró, G. (2018). Babesia microti-like piroplasm (syn. Babesia vulpes) infection in red foxes (Vulpes vulpes) in NW Spain (Galicia) and its relationship with Ixodes hexagonus. *Veterinary Parasitology*, 252, 22-28. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.01.011>
- Checa, R., Montoya, A., Ortega, N., González-Fraga, J. L., Bartolomé, A., Gálvez, R., Marino, V., & Miró, G. (2017a). Efficacy, safety and tolerance of imidocarb dipropionate versus atovaquone or buparvaquone plus azithromycin used to treat sick dogs naturally infected with the Babesia microti-like piroplasm. *Parasites & Vectors*, 10(1), 145. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2049-0>
- Checa, R., Montoya, A., Ortega, N., González-Fraga, J. L., Bartolomé, A., Gálvez, R., Marino, V., & Miró, G. (2017b). Efficacy, safety and tolerance of imidocarb dipropionate versus atovaquone or buparvaquone plus azithromycin used to treat sick dogs

- naturally infected with the Babesia microti-like piroplasm. *Parasites & Vectors*, 10(1), 145. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2049-0>
- Chelliah, M. K., & Šlapeta, J. (2019). The prevalence and trends of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) in Kuala Lumpur, Malaysia (1970–2018). *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 16, 100272.
- Cleenewerck, M.-B., & Frimat, P. (2004). *Progrès en dermato-allergologie : Lille 2004*. John Libbey Eurotext.
- Companion Animal Parasite Council. (2020). Heartworm. <https://capcvet.org/guidelines/heartworm/>
- Cortes, H. C., Cardoso, L., Giannelli, A., Latrofa, M. S., Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2014). Diversity of *Cercopithifilaria* species in dogs from Portugal. *Parasites & Vectors*, 7(1), 261. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-261>
- Coudert, P., & Donas, É. (2013). Les maladies transmises aux chiens par les tiques. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(531), 44-48. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.10.011>
- Criado-Fornelio, A., González-del-Río, M. A., Buling-Saraña, A., & Barba-Carretero, J. C. (2003). Molecular characterization of a *Babesia gibsoni* isolate from a Spanish dog. *Veterinary Parasitology*, 117(1-2), 123-129. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.08.006>
- Cruz Vazquez, C., Garcia Vazquez, Z., & Morales Soto, M. (1998). Prevalence of *Rhipicephalus sanguineus* infestation in dogs in Cuernavaca, Morelos, Mexico. *Parasitología al día*, 22(1-2), 29-32. <https://doi.org/10.4067/S0716-07201998000100005>
- Cuervo, P. F., Rinaldi, L., & Cringoli, G. (2015). Modeling the extrinsic incubation of *Dirofilaria immitis* in South America based on monthly and continuous climatic data. *Veterinary Parasitology*, 209(1), 70-75. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.010>

- Dantas-Torres, F. (2008). The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari : Ixodidae): From taxonomy to control. *Veterinary Parasitology*, 152(3), 173-185. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.030>
- Dantas-Torres, F. (2010). Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites & Vectors*, 3(1), 26. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-26>
- Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2020). Overview on *Dirofilaria immitis* in the Americas, with notes on other filarial worms infecting dogs. *Veterinary Parasitology*, 282, 109113. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109113>
- Dasanayake, R., Balendran, T., Atapattu, D., & Iddawela, D. (2022). A study on canine dirofilariasis in selected areas of Sri Lanka. *BMC Research Notes*, 15(1), 137. <https://doi.org/10.1186/s13104-022-06024-0>
- Dear, J. D., Owens, S. D., Lindsay, L. L., Biondo, A. W., Chomel, B. B., Marcondes, M., & Sykes, J. E. (2018). *Babesia conradae* infection in coyote hunting dogs infected with multiple blood-borne pathogens. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(5), 1609-1617. <https://doi.org/10.1111/jvim.15233>
- Delaunay, P., Fauran, P., & Marty, P. (2001). Les moustiques d'intérêt médical. *Revue Française des Laboratoires*, 2001(338), 27-36. [https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(01\)80348-6](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(01)80348-6)
- de Oliveira Silva, E., dos Santos Gonçalves, N., Alves dos Santos, R., & Jacometti Cardoso Furtado, N. A. (2016). Microbial Metabolism of Atovaquone and Cytotoxicity of the Produced Phase I Metabolite. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 41(5), 645-650. <https://doi.org/10.1007/s13318-015-0294-1>
- DGCCRF. (2016). Contrôle de la vente au détail des antiparasitaires pour animaux de compagnie. <https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/contrôle-vente-au-détail-des-antiparasitaires-pour-animaux-compagnie>

- Diakou, A., & Prichard, R. K. (2021). Concern for *Dirofilaria immitis* and Macrocytic Lactone Loss of Efficacy : Current Situation in the USA and Europe, and Future Scenarios. *Pathogens*, 10(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101323>
- Douchez, S. (2017). *Etude des interactions entre endosymbiotes et filaires : Cas particulier de *Dirofilaria immitis* et conséquences thérapeutiques vis à vis de la dirofilariose cardio-pulmonaire du chien* [Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire].
- Douine, C., Nelly. (2020). *Enquête nationale sur la babésiose, l'ehrlichiose et autres maladies vectorielles à tiques chez les chiens en France*. [Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire].
- Duvallet, G., & Chabasse, D. (2020). Moustiques et pathogènes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(524), 34-43. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30229-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30229-X)
- Dwużnik-Szarek, D., Mierzejewska, E. J., Rodo, A., Goździk, K., Behnke-Borowczyk, J., Kiewra, D., Kartawik, N., & Bajer, A. (2021). Monitoring the expansion of *Dermacentor reticulatus* and occurrence of canine babesiosis in Poland in 2016–2018. *Parasites & Vectors*, 14(1), 267. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04758-7>
- Dzięgiel, B., Adaszek, Ł., Banach, T., & Winiarczyk, S. (2016). Specificity of mass spectrometry (MALDI-TOF) in the diagnosis of *Babesia canis* regarding to other canine vector-borne diseases. *Annals of Parasitology*, 62(2), 101-105. <https://doi.org/10.17420/ap6202.39>
- Ecole nationale vétérinaire de Lyon. (2022). Dermatologie parasitaire du chat. <http://alzarine.vetagro-sup.fr/dp-chat/parasites/maltiques.html>
- Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. (2022). Dermatoses parasitaires des ruminants. <http://alzarine.vetagro-sup.fr/dp-chat/parasites/maltiques.html>
- Eichenberger, R. M., Riond, B., Willi, B., Hofmann-Lehmann, R., & Deplazes, P. (2016). Prognostic Markers in Acute *Babesia canis* Infections. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(1), 174-182. <https://doi.org/10.1111/jvim.13822>

- Eliot, G. (2015). *Babésiose canine : État des connaissances officinales en Poitou-Charentes*
[Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Faculté de médecine et de
pharmacie]. <http://petille.univ-poitiers.fr/notice/view/45822>
- ESCCAP—*European Scientific Counsel Companion Animal and Parasites*. (2011). Lignes
directrices | GL5 : Contrôle des maladies à transmission vectorielle chez les chiens et
les chats. <https://www.esccap.org/guidelines/gl5/>
- European Medicines Agency*. (2018, septembre 17). Nobivac Piro.
<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/nobivac-piro>
- Falkenö, U., Tasker, S., Osterman-Lind, E., & Tvedten, H. W. (2013). *Theileria annae* in a
young Swedish dog. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55(1), 50.
<https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-50>
- Fédération de Fabricants d'Aliments pour Chiens, Chats, Oiseaux*. (2023). Les chiffres de la
population animale en France. [https://www.facco.fr/chiffres-cles/les-chiffres-de-la-
population-animale/](https://www.facco.fr/chiffres-cles/les-chiffres-de-la-population-animale/)
- Földvári, G., Široký, P., Szekeres, S., Majoros, G., & Sprong, H. (2016). *Dermacentor*
reticulatus : A vector on the rise. *Parasites & Vectors*, 9(1), 314.
<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1599-x>
- Foster, W. A., & Walker, E. D. (2019). Chapter 15—Mosquitoes (Culicidae). In G. R. Mullen &
L. A. Durden (Éds.), *Medical and Veterinary Entomology (Third Edition)* (p. 261-325).
Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00015-7>
- Freeman, M. J., Kirby, B. M., Panciera, D. L., Henik, R. A., Rosin, E., & Sullivan, L. J. (1994).
Hypotensive shock syndrome associated with acute *Babesia canis* infection in a dog.
Journal of the American Veterinary Medical Association, 204(1), 94-96.
- Fresnay, E. (2018). Pharmacovigilance vétérinaire : La surveillance des effets indésirables et
des défauts d'efficacité des médicaments vétérinaires. *La Santé de l'Abeille*, 284, 111.

- Fuente, J. de la. (2008). Overview : Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Frontiers in Bioscience, Volume(13)*, 6938.
<https://doi.org/10.2741/3200>
- Fukumoto, S., Suzuki, H., Igarashi, I., & Xuan, X. (2005). Fatal experimental transplacental Babesia gibsoni infections in dogs. *International Journal for Parasitology, 35(9)*, 1031-1035. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.03.018>
- Fukumoto, S., Tamaki, Y., Igarashi, I., Suzuki, H., & Xuan, X. (2009). Immunogenicity and growth inhibitory efficacy of the prime–boost immunization regime with DNA followed by recombinant vaccinia virus carrying the P29 gene of Babesia gibsoni in dogs. *Experimental Parasitology, 123(4)*, 296-301.
<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.08.012>
- Fukumoto, S., Tamaki, Y., Okamura, M., Bannai, H., Yokoyama, N., Suzuki, T., Igarashi, I., Suzuki, H., & Xuan, X. (2007). Prime-boost immunization with DNA followed by a recombinant vaccinia virus expressing P50 induced protective immunity against Babesia gibsoni infection in dogs. *Vaccine, 25(7)*, 1334-1341.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.09.083>
- Fukumoto, S., Tamaki, Y., Shirafuji, H., Harakawa, S., Suzuki, H., & Xuan, X. (2005). Immunization with recombinant surface antigen P50 of Babesia gibsoni expressed in insect cells induced parasite growth inhibition in dogs. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 12(4)*, 557-559. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.4.557-559.2005>
- Furtado, A. P., Melo, F. T. V., Giese, E. G., & dos Santos, J. N. (2010). Morphological redescription of Dirofilaria immitis. *The Journal of Parasitology, 96(3)*, 499-504.
<https://doi.org/10.1645/GE-2178.1>

- Gabrielli, S., Otašević, S., Ignjatović, A., Savić, S., Fraulo, M., Arsić-Arsenijević, V., Momčilović, S., & Cancrini, G. (2015). Canine Babesioses in Noninvestigated Areas of Serbia. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, *15*(9), 535-538.
<https://doi.org/10.1089/vbz.2015.1797>
- Garnier, T., Mäntylä, A., Järvinen, T., Lawrence, J., Brown, M., & Croft, S. (2007). In vivo studies on the antileishmanial activity of buparvaquone and its prodrugs. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *60*, 802-810. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm303>
- Gathany, J. (2002). *Aedes albopictus commençant son repas sanguin*.
<https://phil.cdc.gov/details.aspx?pid=2165>
- Genchi, C., & Kramer, L. H. (2020). The prevalence of *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in the Old World. *Veterinary Parasitology*, *280*, 108995.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108995>
- Genchi, C., Rinaldi, L., Cascone, C., Mortarino, M., & Cringoli, G. (2005). Is heartworm disease really spreading in Europe? *Veterinary Parasitology*, *133*(2), 137-148.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.009>
- Ghasemzade, M., Esmailnejad, B., Siamak, A.-R., & Hadian, M. (2021). Molecular identification of *Babesia canis canis* genotype A in a dog from Iran. *Veterinary Medicine and Science*, *8*. <https://doi.org/10.1002/vms3.630>
- Gilot, B., Robin, Y., Pantou, G., Moncada, E., & Vigny, F. (1975). Ecology and pathogenic role of *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) (Ixodoidea) in South-eastern France. *Acarologia*, *16*(2), Article 2.
- Gonzalez, J.-P. (2013). *Photos tiques*.
- Guiguen, C., Belaz, S., & Degeilh, B. (2019). Bio-écologie et rôle pathogène des tiques de France métropolitaine. *Revue Francophone des Laboratoires*, *2019*(513), 24-33.
[https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(19\)30286-2](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(19)30286-2)

- Guz, L., Adaszek, Ł., Wawrzykowski, J., Ziętek, J., & Winiarczyk, S. (2019). In vitro antioxidant and antibabesial activities of the extracts of *Achillea millefolium*. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 22(2), Article 2. <https://doi.org/10.24425/pjvs.2019.129230>
- Guz, L., Ziętek, J., Puk, K., & Adaszek, Ł. (2020). Inhibitory activities of essential oils against *Babesia canis*. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 23(1), Article 1. <https://doi.org/10.24425/pjvs.2020.132761>
- Han, D., Yoon, W. K., & Hyun, C. (2014). Cerebellar encephalopathy from diminazene aceturate (beneril) toxicity in a dog. *Korean Journal of Veterinary Research*, 54(3), 193-196.
- Hartelt, K., Rieker, T., Oehme, R. m., Brockmann, S. o., Müller, W., & Dorn, N. (2007). First Evidence of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) in Dogs in Western Europe. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 7(2), 163-166. <https://doi.org/10.1089/vbz.2006.0580>
- Hillary, V. E., & Ceasar, S. A. (2021). Chapter Seven—Genome engineering in insects for the control of vector borne diseases. In V. Singh (Éd.), *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (Vol. 179, p. 197-223). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2020.12.017>
- Hoch, H., & Strickland, K. (2008). Canine and feline dirofilariasis : Life cycle, pathophysiology, and diagnosis. *Compendium*, 30(3), 133.
- Hodžić, A., Zörer, J., & Duscher, G. G. (2017). *Dermacentor reticulatus*, a putative vector of *Babesia* cf. *Microti* (syn. *Theileria annae*) piroplasm. *Parasitology Research*, 116(3), 1075-1077. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5379-0>
- Homer, M. J., Aguilar-Delfin, I., Telford, S. R., Krause, P. J., & Persing, D. H. (2000). Babesiosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(3), 451-469. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.3.451>
- Hrazdilová, K., Myśliwy, I., Hildebrand, J., Buńkowska-Gawlik, K., Janaczyk, B., Perec-Matysiak, A., & Modrý, D. (2019). Paralogs vs. genotypes? Variability of *Babesia canis*

- assessed by 18S rDNA and two mitochondrial markers. *Veterinary Parasitology*, 266, 103-110. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.12.017>
- Huang, H., Wang, T., Yang, G., Zhang, Z., Wang, C., Yang, Z., Luo, L., Liu, L., Lan, J., & Huang, X. (2009). Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Dirofilaria immitis* of China based on COI and 12S rDNA genes. *Veterinary Parasitology*, 160(1-2), 175-179. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.10.053>
- Iguchi, A., Shiranaga, N., Matsuu, A., & Hikasa, Y. (2014). Efficacy of Malarone in Dogs Naturally Infected with *Babesia gibsoni*. *The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science*, 76. <https://doi.org/10.1292/jvms.14-0139>
- Ikadai, H., Tanaka, H., Shibahara, N., Matsuu, A., Uechi, M., Itoh, N., Oshiro, S., Kudo, N., Igarashi, I., & Oyamada, T. (2004). Molecular evidence of infections with *Babesia gibsoni* parasites in Japan and evaluation of the diagnostic potential of a loop-mediated isothermal amplification method. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6), 2465-2469. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.6.2465-2469.2004>
- Ioffe-Uspensky, I., Mumcuoglu, K. Y., Uspensky, I., & Galun, R. (1997). *Rhipicephalus sanguineus* and *R. turanicus* (Acari : Ixodidae): Closely Related Species with Different Biological Characteristics. *Journal of Medical Entomology*, 34(1), 74-81. <https://doi.org/10.1093/jmedent/34.1.74>
- Irawan, V. (2015). *Pathogenesis mechanism in Babesia canis*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1774.6084>
- Irwin, P., & Hutchinson, G. (1991). Clinical and pathological findings of *Babesia* infection in dogs. *Australian Veterinary Journal*, 68(6), 204-209. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1991.tb03194.x>
- Irwin, P. J. (2009). Canine babesiosis : From molecular taxonomy to control. *Parasites & Vectors*, 2(1), S4. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-2-S1-S4>

- Jacques, B., & Laurentie, S. (2021). Les médicaments antiparasitaires pour chiens et chats à base de fipronil ne doivent pas être appliqués aux lapins. *Vigil'Anses*, *14*, 13.
- Jalovecká, M., Hajdusek, O., Sojka, D., Kopacek, P., & Malandrín, L. (2018). The Complexity of Piroplasms Life Cycles. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *8*.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00248>
- Jalovecka, M., Sojka, D., Ascencio, M., & Schnittger, L. (2019). Babesia Life Cycle – When Phylogeny Meets Biology. *Trends in Parasitology*, *35*(5), 356-368.
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.01.007>
- Jossand, A.-S. (2016). *Rôle du pharmacien d'officine dans la prévention de la piroplasmose canine* [Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Faculté de médecine et de pharmacie]. <http://petille.univ-poitiers.fr/notice/view/57584>
- Karasová, M., Tóthová, C., Grelová, S., & Fialkovičova, M. (2022). The Etiology, Incidence, Pathogenesis, Diagnostics, and Treatment of Canine Babesiosis Caused by Babesia gibsoni Infection. *Animals*, *12*, 739. <https://doi.org/10.3390/ani12060739>
- Khedri, J., Radfar, M. H., Borji, H., Azizzadeh, M., & Akhtardanesh, B. (2014). Canine Heartworm in Southeastern of Iran with Review of disease distribution. *Iranian Journal of Parasitology*, *9*(4), 560-567.
- Kjemtrup, A. M., Wainwright, K., Miller, M., Penzhorn, B. L., & Carreno, R. A. (2006). Babesia conradae, sp. Nov., a small canine Babesia identified in California. *Veterinary Parasitology*, *138*(1), 103-111. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.044>
- Klotins, K. C., Martin, S. W., Bonnett, B. N., & Peregrine, A. S. (2000). Canine heartworm testing in Canada : Are we being effective? *The Canadian Veterinary Journal*, *41*(12), 929.
- Knight, D. H. (1987). Heartworm Infection. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, *17*(6), 1463-1518. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(87\)50012-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(87)50012-2)

- Koch, H. G. (1982). Oviposition of the Brown Dog Tick (Acari : Ixodidae) in the Laboratory1. *Annals of the Entomological Society of America*, 75(5), 583-586.
<https://doi.org/10.1093/aesa/75.5.583>
- Kuleš, J., Mrljak, V., Rafaj, R. B., Selanec, J., Burchmore, R., & Eckersall, P. D. (2014). Identification of serum biomarkers in dogs naturally infected with *Babesia canis canis* using a proteomic approach. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 111.
<https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-111>
- Kumara, B. (2016). Antibabesial treatment protocols against canine babesiosis. *Sri Lanka Veterinary Journal*, 63, 15. <https://doi.org/10.4038/slvj.v63i1.3>
- Laidoudi, Y., Otranto, D., Stolowy, N., Amrane, S., Santhakumari Manoj, R. R., Polette, L., Watier-Grillot, S., Mediannikov, O., Davoust, B., & L'Ollivier, C. (2021). Human and Animal *Dirofilariasis* in Southeast of France. *Microorganisms*, 9(7), 1544.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9071544>
- Laidoudi, Y., Ringot, D., Watier-Grillot, S., Davoust, B., & Mediannikov, O. (2019). A cardiac and subcutaneous canine *dirofilariasis* outbreak in a kennel in central France. *Parasite*, 26, 72. <https://doi.org/10.1051/parasite/2019073>
- Latrofa, M. S., Dantas-Torres, F., Annoscia, G., Genchi, M., Traversa, D., & Otranto, D. (2012). A duplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection of and differentiation between *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in dogs and mosquitoes. *Veterinary Parasitology*, 185(2), 181-185.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.038>
- Latrofa, M. S., Weigl, S., Dantas-Torres, F., Annoscia, G., Traversa, D., Brianti, E., & Otranto, D. (2012). A multiplex PCR for the simultaneous detection of species of filarioids infesting dogs. *Acta Tropica*, 122(1), 150-154.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.01.006>

- Laurentie, S. (2018). Pharmacovigilance vétérinaire : Le bilan 2016 des effets indésirables chez les animaux. *Vigil'Anses*, 4.
- Lecointre, G., & Le Guyader, H. (2017). Eumétaboles. In *Classification phylogénétique du vivant: Vol. Tome 2*.
- Ledesma, N., & Harrington, L. (2011). Mosquito Vectors of Dog Heartworm in the United States : Vector Status and Factors Influencing Transmission Efficiency. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26(4), 178-185.
<https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.09.005>
- Lee, A. C. Y., Montgomery, S. P., Theis, J. H., Blagburn, B. L., & Eberhard, M. L. (2010). Public health issues concerning the widespread distribution of canine heartworm disease. *Trends in Parasitology*, 26(4), 168-173. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.01.003>
- Lee, M.-J., Yu, D.-H., Yoon, J.-S., Li, Y.-H., Lee, J.-H., Chae, J.-S., & Park, J. (2009). Epidemiologic and Clinical Surveys in Dogs Infected with *Babesia gibsoni* in South Korea. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 9(6), 681-686.
<https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0116>
- Légifrance*. (2023a, mars 9). Chapitre Ier : Dispositions générales. (Articles L5141-1 à L5141-16). <https://www.legifrance.gouv.fr/codes/id/LEGIARTI000045405073/2022-03-25>
- Légifrance*. (2023b, mars 9). Titre IV : Médicaments vétérinaires (Articles L5141-1 à L5146-5). https://www.legifrance.gouv.fr/codes/section_lc/LEGITEXT000006072665/LEGISCTA000006155087/2020-11-05
- Lin, E. C.-Y., Chueh, L.-L., Lin, C.-N., Hsieh, L.-E., & Su, B.-L. (2012). The therapeutic efficacy of two antibabesial strategies against *Babesia gibsoni*. *Veterinary Parasitology*, 186(3), 159-164. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.073>
- Little, S., Saleh, M., Wohltjen, M., & Nagamori, Y. (2018). Prime detection of *Dirofilaria immitis* : Understanding the influence of blocked antigen on heartworm test

- performance. *Parasites & Vectors*, 11(1), 186. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2736-5>
- Liu, P.-C., Lin, Y.-L., Lin, C.-N., & Su, B.-L. (2016). A SimpleProbe® real-time PCR assay for differentiating the cytochrome b M121I mutation in clinical specimens from dogs infected with *Babesia gibsoni*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 7(5), 639-643. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.02.009>
- Lobo, C. A., Rodriguez, M., & Cursino-Santos, J. R. (2012). Babesia and red cell invasion. *Current Opinion in Hematology*, 19(3), 170-175. <https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e328352245a>
- Lu, T.-L., Wong, J.-Y., Tan, T.-L., & Hung, Y.-W. (2017). Prevalence and epidemiology of canine and feline heartworm infection in Taiwan. *Parasites & vectors*, 10(2), 7-15.
- Luck, A. N., Evans, C. C., Riggs, M. D., Foster, J. M., Moorhead, A. R., Slatko, B. E., & Michalski, M. L. (2014). Concurrent transcriptional profiling of *Dirofilaria immitis* and its *Wolbachia* endosymbiont throughout the nematode life cycle reveals coordinated gene expression. *BMC Genomics*, 15(1), 1041. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-1041>
- Magnis, J., Lorentz, S., Guardone, L., Grimm, F., Magi, M., Naucke, T. J., & Deplazes, P. (2013). Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. *Parasites & Vectors*, 6, 48. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-48>
- Mandal, M., Banerjee, P. S., Kumar, S., Garg, R., Ram, H., Kundu, K., & Raina, O. K. (2014). Development and evaluation of serodiagnostic assays with recombinant BgSA1 of *Babesia gibsoni*. *Veterinary Parasitology*, 205(3-4), 483-489. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.020>

- Maslin, J., Beugnet, F., Davoust, B., & Klotz, F. (2004). Babésioses. *EMC - Maladies Infectieuses*, 1(4), 281-292. <https://doi.org/10.1016/j.emcmi.2004.07.003>
- Matheson, R. (1944). Handbook of the Mosquitoes of North America. *Handbook of the Mosquitoes of North America.*, 2nd. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19451000253>
- McCall, J. W., Genchi, C., Kramer, L. H., Guerrero, J., & Venco, L. (2008). Heartworm disease in animals and humans. *Advances in Parasitology*, 66, 193-285. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)00204-2](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)00204-2)
- McHardy, N., Woollon, R. M., Clampitt, R. B., James, J. A., & Crawley, R. J. (1986). Efficacy, toxicity and metabolism of imidocarb dipropionate in the treatment of *Babesia ovis* infection in sheep. *Research in Veterinary Science*, 41(1), 14-20.
- Med'Vet. (2022, octobre 5). Médicament PIRODOG® Lyophilisat et solvant pour suspension injectable pour chiens. <https://www.med-vet.fr/medicament-pirodog-p2127>
- Mehlhorn, H., & Shein, E. (1984). The piroplasms : Life cycle and sexual stages. *Advances in Parasitology*, 23, 37-103. [https://doi.org/10.1016/s0065-308x\(08\)60285-7](https://doi.org/10.1016/s0065-308x(08)60285-7)
- Meireles, J., Paulos, F., & Serrão, I. (2014). Dirofilariose canina e felina. *Revista portuguesa de ciências veterinárias*, 109, 70-78.
- Melleret, E. (2020). *Actualité sur l'hypertension pulmonaire chez le chien : Étiologie, diagnostic et traitement* [Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire].
- Menet, M.-C. (2011). Principes de la spectrométrie de masse. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2011(437), 41-53. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(11\)71211-4](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(11)71211-4)
- Merck Animal Health. (2020). Recueil de produits vétérinaires - Imizol®. <https://merckusa.cvp-service.com/product/basic/view/1047111>
- Mhadhbi, M., Chaouch, M., Ajroud, K., Darghouth, M. A., & BenAbderrazak, S. (2015). Sequence Polymorphism of Cytochrome b Gene in *Theileria annulata* Tunisian

- Isolates and Its Association with Buparvaquone Treatment Failure. *PLoS ONE*, 10(6), e0129678. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129678>
- Mierzejewska, E. J., Dwuznik, D., & Bajer, A. (2018). Molecular study of transovarial transmission of *Babesia canis* in the *Dermacentor reticulatus* tick. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM*, 25(4), Article 4. <https://doi.org/10.26444/aaem/94673>
- Mierzejewska, E. J., Welc-Faleciak, R., Bednarska, M., Rodo, A., & Bajer, A. (2014). The first evidence for vertical transmission of *Babesia canis* in a litter of Central Asian Shepherd dogs. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 21(3). <https://bibliotekanauki.pl/articles/49587>
- Miró, G., Checa, R., Papparini, A., Ortega, N., González-Fraga, J. L., Gofton, A., Bartolomé, A., Montoya, A., Gálvez, R., Mayo, P. P., & Irwin, P. (2015). Theileria annae (syn. Babesia microti-like) infection in dogs in NW Spain detected using direct and indirect diagnostic techniques : Clinical report of 75 cases. *Parasites & Vectors*, 8(1), 217. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0825-2>
- Miron, L. (2016). *Guide des principales maladies parasitaires transmises des animaux non-humains aux humains: Vol. La dirofilariose chez les humains et les animaux.*
- Montag, A. (2022). *Diseases Caused by Arthropods* (p. 391-435). https://doi.org/10.1007/978-3-662-63709-8_23
- Morchón, R., Carretón, E., González Miguel, J., & Mellado Hernández, I. (2012). Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe – New Distribution Trends. *Frontiers in Physiology*, 3. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2012.00196>

- Morchón, R., Montoya-Alonso, J. A., Rodríguez-Escolar, I., & Carretón, E. (2022). What Has Happened to Heartworm Disease in Europe in the Last 10 Years? *Pathogens*, *11*(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/pathogens11091042>
- Moreau, Y., Vidor, E., Bissuel, G., & Dubreuil, N. (1989). Vaccination against canine babesiosis : An overview of field observations. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *83 Suppl*, 95-96. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(89\)90611-1](https://doi.org/10.1016/0035-9203(89)90611-1)
- Mosqueda, J., Olvera-Ramirez, A., Aguilar-Tipacamu, G., & Canto, G. J. (2012). Current advances in detection and treatment of babesiosis. *Current Medicinal Chemistry*, *19*(10), 1504-1518. <https://doi.org/10.2174/092986712799828355>
- Moubri, K., Kleuskens, J., Van de Crommert, J., Scholtes, N., Van Kasteren, T., Delbecq, S., Carcy, B., Précigout, E., Gorenflot, A., & Schetters, T. (2018). Discovery of a recombinant *Babesia canis* supernatant antigen that protects dogs against virulent challenge infection. *Veterinary Parasitology*, *249*, 21-29. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.11.002>
- Negron, V., Saleh, M. N., Soboty, C., Luksovsky, J. L., Harvey, T. V., & Verocai, G. G. (2022). Probe-based qPCR as an alternative to modified Knott's test when screening dogs for heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in combination with antigen detection tests. *Parasites & Vectors*, *15*(1), 306. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05372-x>
- Oi, M., Yoshikawa, S., Ichikawa, Y., Nakagaki, K., Matsumoto, J., & Nogami, S. (2014). Prevalence of *Dirofilaria immitis* among shelter dogs in Tokyo, Japan, after a decade : Comparison of 1999–2001 and 2009–2011. *Parasite*, *21*, 10.
- Orihel, T. C. (1961). Morphology of the Larval Stages of *Dirofilaria immitis* in the Dog. *The Journal of Parasitology*, *47*(2), 251-262. <https://doi.org/10.2307/3275301>

- Otsuka, H. (1974). Studies on transmission of *Babesia gibsoni* Patton (1910) by *Haemaphysalis longicornis* Neumann (1901). *Bulletin of the Faculty of Agriculture - Miyazaki University (Japan)*.
- Oyamada, M., Davoust, B., Boni, M., Dereure, J., Bucheton, B., Hammad, A., Itamoto, K., Okuda, M., & Inokuma, H. (2005). Detection of *Babesia canis rossi*, *B. canis vogeli*, and *Hepatozoon canis* in Dogs in a Village of Eastern Sudan by Using a Screening PCR and Sequencing Methodologies. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12(11), 1343-1346. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.11.1343-1346.2005>
- Paulauskas, A., Radzijeuskaja, J., Karvelienė, B., Grigonis, A., Aleksandravičienė, A., Zamokas, G., Babickaitė, L., Sabūnas, V., & Petkevičius, S. (2014). Detection and molecular characterization of canine babesiosis causative agent *Babesia canis* in the naturally infected dog in Lithuania. *Veterinary Parasitology*, 205(3), 702-706. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.09.001>
- Paulauskas, A., Radzijeuskaja, J., Mardosaitė-Busaitienė, D., Aleksandravičienė, A., Galdikas, M., & Krikštolaitis, R. (2015). New localities of *Dermacentor reticulatus* ticks in the Baltic countries. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.05.007>
- Peregrine, A. S., & Mamman, M. (1993). Pharmacology of diminazene : A review. *Acta Tropica*, 54(3), 185-203. [https://doi.org/10.1016/0001-706X\(93\)90092-P](https://doi.org/10.1016/0001-706X(93)90092-P)
- Perez-Eid, C. (2007). *Les tiques : Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire*. Lavoisier.
- Perez-Eid, C., & Gilot, B. (1998). Les tiques : Cycles, habitats, hôtes, rôle pathogène, lutte. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 28(4, Supplement 1), 335-343. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(98\)70218-5](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(98)70218-5)

- Péter, O., & Brossard, M. (1998). Lutte contre les tiques. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 28(4, Supplement 1), 383-386. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(98\)70228-8](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(98)70228-8)
- Pierre-Olivier, M. (2022). *Chapitre 7. Vecteurs et lutte antivectorielle* (p. 55-67).
- Poletti, V., & Kolf-Clauw, M. (1998). Principales intoxications médicamenteuses chez les carnivores domestiques. *Le point vétérinaire*, 29(188).
- Prichard, R. K. (2021). Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis* : Risks for prevention of heartworm disease. *International Journal for Parasitology*, 51(13), 1121-1132. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.08.006>
- Pritt, S., Cohen, K., & Sedlacek, H. (2012). Chapter 15—Parasitic Diseases. In M. A. Suckow, K. A. Stevens, & R. P. Wilson (Éds.), *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents* (p. 415-446). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380920-9.00015-8>
- Prot, J. (1984). *Introduction à la nématologie*.
https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:VC9wMibehiMJ:https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers11-12/15759.pdf&cd=4&hl=fr&ct=clnk&gl=us&client=firefox-b-d
- Qiu, K., Song, X., Tang, G., Wu, L., & Min, S. (2013). Determination of Fipronil in Acetamiprid Formulation by Attenuated Total Reflectance-Mid-Infrared Spectroscopy Combined with Partial Least Squares Regression. *Analytical Letters*, 46.
<https://doi.org/10.1080/00032719.2013.800537>
- Qurollo, B., Archer, N., Schreeg, M., Marr, H., Birkenheuer, A., Haney, K., Thomas, B., & Breitschwerdt, E. (2017). Improved molecular detection of *Babesia* infections in animals using a novel quantitative real-time PCR diagnostic assay targeting mitochondrial DNA. *Parasites & Vectors*, 10. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2064-1>

- Radzijeuskaja, J., Mardosaitė-Busaitienė, D., Aleksandravičienė, A., Karveliėne, B., Razgūnaitė, M., Stadalienė, I., & Paulauskas, A. (2022). Genetic Diversity of *Babesia canis* Strains in Dogs in Lithuania. *Microorganisms*, *10*, 1446. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071446>
- Railliet, A.-L.-J. (1852-1930). (1895). *Traité de zoologie médicale et agricole, par A. Railliet, 2e édition*. <https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k5828836b>
- Rakotonirina, A. (2021). *Apport de la spectrométrie de masse MALDI-TOF à la surveillance des moustiques vecteurs d'arbovirus* [Thèse de doctorat en biologie des populations et écologie].
- Rakover, P. (2018). *la piroplasmose : Parasite, vecteurs, traitements* [Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie]. <https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=la+piroplasmose+%3A+parasite%2C+vecteurs%2C+traitements>
- Rebaud, A. (2006). *Éléments d'épidémiologie de la babésiose bovine à Babesia divergens dans une clientèle des monts du lyonnais* [Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire].
- Règlement (UE) 2019/6 du Parlement européen et du Conseil du 11 décembre 2018 relatif aux médicaments vétérinaires et abrogeant la directive 2001/82/CE. (2018). <http://data.europa.eu/eli/reg/2019/6/oj/fra>
- René-Martellet, M., Moro, C. V., Chêne, J., Bourdoiseau, G., Chabanne, L., & Mavingui, P. (2015). Update on epidemiology of canine babesiosis in Southern France. *BMC Veterinary Research*, *11*(1), 223. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0525-3>
- Rostang, A., Belloc, C., Maridor, M. L., & Pouliquen, H. (2022). La pharmacie vétérinaire : Un enjeu majeur pour un élevage durable. *INRAE Productions Animales*, *35*(4), 245-246.

- Rubio Robles, M., Maribel, G., Enríquez Verdugo, I., Cota, S., & Castro del Campo, N. (2015). *Rhipicephalus sanguineus* on canines in Sinaloa, México. *REDVET Rev. electrón. vet.*, *16*, 1-10 Ref. 031501_.
- Rueda, L. M., & Debboun, M. (2020). Chapter 1—Taxonomy, Identification, and Biology of Mosquitoes. In M. Debboun, M. R. Nava, & L. M. Rueda (Éds.), *Mosquitoes, Communities, and Public Health in Texas* (p. 3-7). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814545-6.00001-8>
- Saari, S., Näreaho, A., & Nikander, S. (2019). Chapter 8—Insecta. In S. Saari, A. Näreaho, & S. Nikander (Éds.), *Canine Parasites and Parasitic Diseases* (p. 159-185). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814112-0.00008-8>
- Sakuma, M., Setoguchi, A., & Endo, Y. (2009). Possible Emergence of Drug-Resistant Variants of *Babesia gibsoni* in Clinical Cases Treated with Atovaquone and Azithromycin. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *23*(3), 493-498.
<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0300.x>
- Sang, C., Yang, Y., Dong, Q., Xu, B., Liu, G., Hornok, S., Liu, Z., Wang, Y., & Hazihan, W. (2021). Molecular survey of *Babesia* spp. In red foxes (*Vulpes Vulpes*), Asian badgers (*Meles leucurus*) and their ticks in China. *Ticks and Tick-borne Diseases*, *12*, 101710.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101710>
- Savadelis, M. D., Day, K. M., Bradner, J. L., Wolstenholme, A. J., Dzimianski, M. T., & Moorhead, A. R. (2018). Efficacy and side effects of doxycycline versus minocycline in the three-dose melarsomine canine adulticidal heartworm treatment protocol. *Parasites & Vectors*, *11*(1), 671. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3264-z>
- Schnittger, L., Rodriguez, A. E., Florin-Christensen, M., & Morrison, D. A. (2012). *Babesia* : A world emerging. *Infection, Genetics and Evolution*, *12*(8), 1788-1809.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.004>

- Schoeman, J. P. (2009). Canine babesiosis : Tick-borne diseases. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 76(1), 59-66. <https://doi.org/10.10520/EJC86365>
- Schreeg, M. E., Marr, H. S., Tarigo, J. L., Cohn, L. A., Bird, D. M., Scholl, E. H., Levy, M. G., Wiegmann, B. M., & Birkenheuer, A. J. (2016). Mitochondrial Genome Sequences and Structures Aid in the Resolution of Piroplasmida phylogeny. *PLoS One*, 11(11), e0165702. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165702>
- Semat, J. (2016). *Lise en place d'une méthode de diagnostic moléculaire par PCR quantitative pour détecter et identifier les microfilaries sanguines de Dirofilaria immitis et de Dirofilaria repens chez le chien* [Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire].
- Sereno, D., Michon, P., Brajon, N., & Lemesre, J. L. (1997). Phenotypic characterization of *Leishmania mexicana* pentamidine-resistant promastigotes. Modulation of the resistance during in-vitro developmental life cycle. *Comptes Rendus de l'Académie Des Sciences. Serie III, Sciences de La Vie*, 320(12), 981-987. [https://doi.org/10.1016/s0764-4469\(97\)82471-7](https://doi.org/10.1016/s0764-4469(97)82471-7)
- Sharifdini, M., Karimi, M., Ashrafi, K., Soleimani, M., & Mirjalali, H. (2022). Prevalence and molecular characterization of *Dirofilaria immitis* in road killed canids of northern Iran. *BMC Veterinary Research*, 18. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03270-z>
- Shoop, W. L., Hartline, E. J., Gould, B. R., Waddell, M. E., McDowell, R. G., Kinney, J. B., Lahm, G. P., Long, J. K., Xu, M., Wagerle, T., Jones, G. S., Dietrich, R. F., Cordova, D., Schroeder, M. E., Rhoades, D. F., Benner, E. A., & Confalone, P. N. (2014). Discovery and mode of action of afoxolaner, a new isoxazoline parasiticide for dogs. *Veterinary Parasitology*, 201(3), 179-189. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.020>
- Simões, P. B., Cardoso, L., Araújo, M., Yisaschar-Mekuzas, Y., & Baneth, G. (2011). Babesiosis due to the canine *Babesia microti*-like small piroplasm in dogs—First report from

- Portugal and possible vertical transmission. *Parasites & Vectors*, 4(1), 50.
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-50>
- Simón, F., & Genchi, C. &. (2001). *Heartworm infection in humans and animals*. Universidad de Salamanca.
- Simón, F., Morchón, R., González-Miguel, J., Marcos-Atxutegi, C., & Siles-Lucas, M. (2009). What is new about animal and human dirofilariosis? *Trends in Parasitology*, 25(9), 404-409. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.06.003>
- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., & Montoya-Alonso, J. A. (2012). Human and Animal Dirofilariosis : The Emergence of a Zoonotic Mosaic. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(3), 507-544.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00012-12>
- Siroký, P., Szekeres, S., Majoros, G., & Sprong, H. (2016). *Dermacentor reticulatus* : A vector on the rise. *Parasites & Vectors*, in press. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1599-x>
- Solano-Gallego, L., & Baneth, G. (2011). Babesiosis in dogs and cats—Expanding parasitological and clinical spectra. *Veterinary Parasitology*, 181(1), 48-60.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.04.023>
- Solano-Gallego, L., Sainz, Á., Roura, X., Estrada-Peña, A., & Miró, G. (2016). A review of canine babesiosis : The European perspective. *Parasites & Vectors*, 9(1), 336.
<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1596-0>
- Song, K. H., Park, J. E., Lee, D. H., Lee, S. H., & Shin, H. J. (2010). Serological update and molecular characterization of *Dirofilaria immitis* in dogs, South Korea. *Research in veterinary science*, 88(3), 467-469.
- Stayton, E., Lineberry, M., Thomas, J., Bass, T., Allen, K., Chandrashekar, R., Yost, G., Reichard, M., & Miller, C. (2021). Emergence of *Babesia conradae* infection in coyote-

- hunting Greyhounds in Oklahoma, USA. *Parasites & Vectors*, 14.
<https://doi.org/10.1186/s13071-021-04897-x>
- Stef, B. (2010). *la piroplasmose canine : Ce que doit savoir le pharmacien d'officine* [Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie]. Faculté de médecine de Nancy.
- Stegeman, J. R., Birkenheuer, A. J., Kruger, J. M., & Breitschwerdt, E. B. (2003). Transfusion-associated *Babesia gibsoni* infection in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 222(7), 959-963, 952.
<https://doi.org/10.2460/javma.2003.222.959>
- Swamy, K. K. P., Mohanapriya, T., Enbavelan, P. A., Sundararajan, R. C., Saravanan, S., & Ramprabhu, R. (2019). Triple Therapy in Canine Babesiosis—A Case Report. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(12), 964-967.
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.812.124>
- Tahir, D. (2017). *Moustiques et dirofilariose : Mise au point et utilisation d'outils innovants pour la détection et la surveillance* [Thèse de doctorat en biologie].
- Tahir, D., Damene, H., Davoust, B., & Parola, P. (2017). First molecular detection of *Dirofilaria immitis* (Spirurida : Onchocercidae) infection in dogs from Northern Algeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 51, 66-68.
- Taylor, A. E. R. (1960). The Development of *Dirofilaria immitis* in the Mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Helminthology*, 34(1-2), 27-38.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X00020307>
- Teka, I. A., Kazibwe, A. J. N., El-Sabbagh, N., Al-Salabi, M. I., Ward, C. P., Eze, A. A., Munday, J. C., Mäser, P., Matovu, E., Barrett, M. P., & de Koning, H. P. (2011). The Diamidine Diminazene Aceturate Is a Substrate for the High-Affinity Pentamidine Transporter : Implications for the Development of High Resistance Levels in Trypanosomes. *Molecular Pharmacology*, 80(1), 110-116. <https://doi.org/10.1124/mol.111.071555>

- Teodorowski, O., Kalinowski, M., Winiarczyk, D., Dokuzeylül, B., Winiarczyk, S., & Adaszek, Ł. (2022). Babesia gibsoni Infection in Dogs—A European Perspective. *Animals*, *12*, 730. <https://doi.org/10.3390/ani12060730>
- Trotta, M., Carli, E., Novari, G., Furlanello, T., & Solano-Gallego, L. (2009). Clinicopathological findings, molecular detection and characterization of Babesia gibsoni infection in a sick dog from Italy. *Veterinary Parasitology*, *165*(3), 318-322. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.07.022>
- Uilenberg, G. (2006). Babesia—A historical overview. *Veterinary Parasitology*, *138*(1), 3-10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.035>
- Uilenberg, G., Verdiesen, P. A. H. M., & Zwart, D. (1981). Imidocarb : A chemoprophylactic experiment with Babesia canis. *Veterinary Quarterly*, *3*(3), 118-123. <https://doi.org/10.1080/01652176.1981.9693811>
- Université de liège. (2010). *Pathologies des maladies parasitaires, , chien et chat*. <http://www.dmipfmv.ulg.ac.be/parasitovet/m/doc1/ChienChat.pdf>
- Uspensky, I., & Ioffe-Uspensky, I. (2002). The dog factor in brown dog tick Rhipicephalus sanguineus (Acari:Ixodidae) infestations in and near human dwellings. *International Journal of Medical Microbiology*, *291*, 156-163. [https://doi.org/10.1016/S1438-4221\(02\)80030-3](https://doi.org/10.1016/S1438-4221(02)80030-3)
- Utine, C. (2011). Update and critical appraisal of the use of topical azithromycin ophthalmic 1% (AzaSite®) solution in the treatment of ocular infections. *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, *5*, 801-809. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S13785>
- Vargas, G., André, M., Faria, J., Munhoz, T., Hernández-Rodríguez, M., Machado, R., & Tinucci-Costa, M. (2011). Molecular and serological detection of Ehrlichia canis and Babesia vogeli in dogs in Colombia. *Veterinary parasitology*, *186*, 254-260. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.011>

Vayssier-Taussat, M. (2016). Les tiques : Infections, co-infections et moyens de prévention.

Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine, 200(7), 1337-1348.

[https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)30604-1](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)30604-1)

Vercammen, F., De Deken, R., & Maes, L. (1995). Clinical and serological observations on experimental infections with *Babesia canis* and its diagnosis using the IFAT. *Parasite (Paris, France)*, 2(4), 407-410.

Vercammen, F., De Deken, R., & Maes, L. (1996a). Prophylactic activity of imidocarb against experimental infection with *Babesia canis*. *Veterinary Parasitology*, 63(3-4), 195-198.
[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00901-9](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00901-9)

Vercammen, F., De Deken, R., & Maes, L. (1996b). Prophylactic treatment of experimental canine babesiosis (*Babesia canis*) with doxycycline. *Veterinary Parasitology*, 66(3-4), 251-255. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(96\)01016-3](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(96)01016-3)

Víchová, B., Horská, M., Blaňarová, L., Švihran, M., Andersson, M., & Peňko, B. (2016). First molecular identification of *Babesia gibsoni* in dogs from Slovakia, central Europe. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 7(1), 54-59.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.08.004>

Villeneuve, A. (2012). *Les tiques, mieux les connaître, mieux s' en protéger*.

Villeneuve, A. (2014). *La dirofilariose canine : Propositions de traitement et de prévention appropriées au Québec*.

Visee, E. (2008). *Intérêt de l'amplification génique (PCR) pour diagnostiquer. Les piroplasmoses canines en France* [Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire]. <https://docplayer.fr/83306987-Interet-de-l-amplification-genique-pcr-pour-diagnostiquer-les-piroplasmoses-canines-en-france.html>

- Vishnurahav, R. B., Pillai, U. N., Ajithkumar, S., & Sabu, L. (2017). Efficacy study of clindamycin as potential monotherapy treatment plan for clinical case of dogs infected with *Babesia gibsoni*. *Malaysian Journal of Veterinary Research*, 8(1), 45-49.
- Vishwakarma, P., & Nandini, M. K. (2019). *Overview of Canine Babesiosis*.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.82243>
- Vörös, K., Becker, Z., Kónya, R., Arany-Tóth, A., & Farkas, R. (2022). Application of Moxidectin and Ultrasound-Aided Injection of Melarsomine During the American Heartworm Society Recommended Treatment Protocol in *Dirofilaria immitis* Infected Dogs. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 22(7), 382-390.
<https://doi.org/10.1089/vbz.2021.0108>
- Walker, A. R. (1899). *Stade piroplasmique de Babesia canis infectant les globules rouges d'un chien. Giemsa teinté*. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=19032008>
- Wallace, J. R. (2009). Diptera (Biting Flies). In G. E. Likens (Éd.), *Encyclopedia of Inland Waters* (p. 280-287). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012370626-3.00171-X>
- Wang, C., Ahluwalia, S. K., Li, Y., Gao, D., Poudel, A., Chowdhury, E., Boudreaux, M. K., & Kaltenboeck, B. (2010). Frequency and therapy monitoring of canine *Babesia* spp. Infection by high-resolution melting curve quantitative FRET-PCR. *Veterinary parasitology*, 168(1-2), 11-18.
- Wang, J., Liu, J., Yang, J., Liu, Z., Wang, X., Li, Y., Luo, J., Guan, G., & Yin, H. (2019). Molecular detection and genetic diversity of *Babesia canis canis* in pet dogs in Henan Province, China. *Parasitology International*, 71, 37-40.
<https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.03.011>
- Wardrop, K. J., Birkenheuer, A., Blais, M. C., Callan, M. B., Kohn, B., Lappin, M. R., & Sykes, J. (2016). Update on Canine and Feline Blood Donor Screening for Blood-Borne

- Pathogens. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(1), 15-35.
<https://doi.org/10.1111/jvim.13823>
- Weigl, B., Domingo, G., Labarre, P., & Gerlach, J. (2008). Towards non- and minimally instrumented, microfluidics-based diagnostic devices. *Lab on a Chip*, 8(12), 1999-2014. <https://doi.org/10.1039/b811314a>
- Wilkie, G. M., Brown, C. G., Kirvar, B. E., Thomas, M., Williamson, S. M., Bell-Sakyi, L. J., & Sparagano, O. (1998). Chemoprophylaxis of *Theileria annulata* and *Theileria parva* infections of calves with buparvaquone. *Veterinary Parasitology*, 78(1), 1-12.
[https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(98\)00126-5](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(98)00126-5)
- Wolstenholme, A. J., Evans, C. C., Jimenez, P. D., & Moorhead, A. R. (2015). The emergence of macrocyclic lactone resistance in the canine heartworm, *Dirofilaria immitis*. *Parasitology*, 142(10), 1249-1259. <https://doi.org/10.1017/S003118201500061X>
- Wulansari, R., Wijaya, A., Ano, H., Horii, Y., Nasu, T., Yamane, S., & Makimura, S. (2003). Clindamycin in the Treatment of *Babesia gibsoni* Infections in Dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 39(6), 558-562.
<https://doi.org/10.5326/0390558>
- Yabsley, M. J., & Shock, B. C. (2013). Natural history of Zoonotic *Babesia* : Role of wildlife reservoirs. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 18-31.
<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2012.11.003>
- Yeagley, T. J., Reichard, M. V., Hempstead, J. E., Allen, K. E., Parsons, L. M., White, M. A., Little, S. E., & Meinkoth, J. H. (2009). Detection of *Babesia gibsoni* and the canine small *Babesia* « Spanish isolate » in blood samples obtained from dogs confiscated from dogfighting operations. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(5), 535-539. <https://doi.org/10.2460/javma.235.5.535>

- Younes, L., Barré-Cardi, H., Bedjaoui, S., Ayhan, N., Varloud, M., Mediannikov, O., Otranto, D., & Davoust, B. (2021). *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in mosquitoes from Corsica Island, France. *Parasites & Vectors*, *14*, 427. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04931-y>
- Zahler, M., Schein, E., Rinder, H., & Gothe, R. (1998). Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs. *Parasitology Research*, *84*(7), 544-548. <https://doi.org/10.1007/s004360050445>
- Zarei, Z., Kia, E. B., Heidari, Z., Mikaeili, F., Mohebal, M., & Sharifdini, M. (2016). Age and sex distribution of *Dirofilaria immitis* among dogs in Meshkin-Shahr, northwest Iran and molecular analysis of the isolates based on COX1 gene. *Veterinary Research Forum*, *7*(4), 329-334.
- Zenner, L., & Drevon-Gaillot, É. (2003). Contrôle et lutte chimique contre les tiques. *Point vétérinaire*, *34*, 18-21.
- Zhan, H., Wang, H., Liao, L., Feng, Y., Fan, X., Zhang, L., & Chen, S. (2018). Kinetics and Novel Degradation Pathway of Permethrin in *Acinetobacter baumannii* ZH-14. *Frontiers in Microbiology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00098>
- Zhou, M., Cao, S., Luo, Y., Liu, M., Wang, G., Moumouni, P. F. A., Jirapattharasate, C., Iguchi, A., Vudriko, P., Terkawi, M. A., Löwenstein, M., Kern, A., Nishikawa, Y., Suzuki, H., Igarashi, I., & Xuan, X. (2016). Molecular identification and antigenic characterization of a merozoite surface antigen and a secreted antigen of *Babesia canis* (BcMSA1 and BcSA1). *Parasites & Vectors*, *9*(1), 257-257. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1518-1>