

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	5
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	7
INTRODUCTION.....	11
PREMIÈRE PARTIE :	13
LA THÉLAZIOSE OCULAIRE DU CHIEN	13
I- PRÉSENTATION DE <i>THELAZIA CALLIPAEDA</i>	15
1- Éléments de classification.....	15
2- Caractéristiques anatomiques et morphologiques	16
3- Génétique.....	20
4- Cycle évolutif.....	21
5- Répartition géographique de <i>T. callipaeda</i>	29
a- Europe	29
b- Autres continents	33
II- ÉPIDÉMIOLOGIE	33
1- Sources de parasites	33
2- Modes de transmission.....	34
3- Résistance	34
4- Réceptivité et sensibilité.....	35
III- POUVOIR PATHOGÈNE DES THÉLAZIES ET SIGNES CLINIQUES DE LA THÉLAZIOSE	36
1- Pouvoir pathogène.....	36
2- Signes cliniques	36
IV- DIAGNOSTIC.....	38
V- TRAITEMENT	40
1- Retrait manuel	40
2- Traitement médical.....	40
VI- PRÉVENTION ET CONTRÔLE.....	43
1- Vis-à-vis de <i>T. callipaeda</i>	43
2- Vis-à-vis de <i>P. variegata</i>	43

a-	Molécules insecticides.....	44
b-	Pièges mécaniques dans les cultures de fraises.....	44
c-	Programmes de traitement contre la mouche <i>Drosophila suzukii</i> par la chambre d'agriculture	45
VII-	CONTAMINATION HUMAINE	46
	DEUXIÈME PARTIE :.....	49
	LA LUTTE VIS-À-VIS DES MALADIES VECTORISÉES CHEZ LE CHIEN.....	49
I-	LUTTE ANTIVECTORIELLE	51
1-	Mesures offensives	51
a-	Tarissement des sources de parasites.....	51
b-	Destruction des formes de passage	51
2-	Mesures défensives	52
II-	CHIMIOPRÉVENTION.....	52
III-	VACCINATION	53
	TROISIÈME PARTIE :.....	55
	ESSAI CLINIQUE EN DORDOGNE	55
I-	INTRODUCTION.....	57
II-	OBJECTIFS.....	57
III-	MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	57
1-	Critères de sélection des chiens	57
2-	Protocole.....	59
3-	Recueil des données	59
4-	Traitement et prélèvement	60
5-	Analyse statistique	60
IV-	RÉSULTATS	61
1-	Description des signes cliniques	61
2-	Association brute entre le traitement reçu par le chien et la présence de parasites	62
3-	Association causale entre le groupe dans lequel le chien se trouve et la présence de parasites.....	63
a-	Association causale entre le traitement Seresto® et la présence de parasites	63
b-	Association causale entre le traitement Advocate® et la présence de parasites	64
4-	Recherche de facteur(s) de risque d'infestation parasitaire	66

a-	Association causale entre la proximité du lieu de vie du chien avec des cultures de fraises.....	66
b-	Association causale entre le contact du chien avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites	67
c-	Associations brutes entre les autres expositions et la présence de parasites	68
V-	DISCUSSION.....	69
1-	Biais dans l'association causale entre le traitement Seresto® et la présence de parasites.....	69
2-	Biais dans l'association causale entre le traitement Advocate® et la présence de parasites.....	71
3-	Biais dans l'association causale entre la proximité du lieu de vie du chien avec des cultures de fraises et la présence de parasites	71
4-	Biais dans l'association causale entre le contact du chien avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites	72
5-	Biais dans les associations entre les autres expositions et la présence de parasites.....	73
	CONCLUSION	75
	BIBLIOGRAPHIE	77

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AMM : autorisation de mise sur le marché

cox1 : sous-unité 1 de la cytochrome c oxidase mitochondriale

D. immitis : *Dirofilaria immitis*

D. suzukii : *Drosophila suzukii*

ENVA : École Nationale Vétérinaire d'Alfort

GABA : acide γ -aminobutyrique

h1 à h8 : haplotype 1 à haplotype 8

HD : hôte définitif

HI : hôte intermédiaire

IC_{95 %} : intervalle de confiance à 95 %

IGP : Indication Géographique Protégée

ITS1 : *Internal Transcribed Spacer 1*

L1 : larve au stade 1 de son développement

L2 : larve au stade 2 de son développement

L3 : larve au stade 3 de son développement

L3(i) : larve au stade 3 de son développement infestante

L4 : larve au stade 4 de son développement

M. domestica : *Musca domestica*

MDR-1 : *Multi-Drug Resistance*

NaCl 0,9 % : chlorure de sodium à 0,9 %

OR : *Odds Ratio*

P. okadai : *Phortica okadai*

P. variegata : *Phortica variegata*

PCR : *polymerase chain reaction*

SSCP : *single-strand conformation polymorphism*

T. californiensis : *Thelazia californiensis*

T. callipaeda : *Thelazia callipaeda*

T. gulosa : *Thelazia gulosa*

T. lacrymalis : *Thelazia lacrymalis*

T. rhodesi : *Thelazia rhodesi*

T. skrjabini : *Thelazia skrjabini*

URSS : Union des Républiques Socialistes Soviétiques

v-cox1 : région hypervariable du gène *cox1*

V1 à V9 : première à neuvième visite chez le vétérinaire durant l'essai clinique

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Liste des Figures

Figure 1 : aspect d'adultes de <i>Thelazia callipaeda</i> à la loupe binoculaire (grossissement x50)	16
Figure 2 : aspect microscopique de la partie antérieure d'un nématode adulte <i>Thelazia callipaeda</i> (source : Caron <i>et al.</i> , 2013).....	17
Figure 3 : aspect microscopique de l'extrémité antérieure d'une femelle <i>Thelazia callipaeda</i> . La vulve est localisée rostralement à la jonction oesophago-intestinale (source : Soares <i>et al.</i> , 2013)	18
Figure 4 : aspect microscopique de l'extrémité caudale d'un mâle <i>Thelazia callipaeda</i>	19
Figure 5 : aspect microscopique de l'extrémité caudale d'un mâle <i>Thelazia callipaeda</i>	19
Figure 6 : organisation du génome mitochondrial de <i>Thelazia callipaeda</i> . Le génome contient 12 gènes codant des protéines (cox1-3, nad1-6, nad4L, atp6, cytb), 22 gènes codant des ARN transférases, deux gènes codant de l'ARN ribosomal (rrnL, rrnS) et une région non-codante (AT) (source : Liu <i>et al.</i> , 2013).....	21
Figure 7 : cycle évolutif de <i>Thelazia callipaeda</i> . L1 : larves de <i>T. callipaeda</i> au stade 1 de son développement ; L3(i) : larves au stade 3 qui correspondent aux formes infestantes ; HI : hôte intermédiaire (<i>P. variegata</i> démontrée en Europe) ; HD : hôte définitif (chien, chat, renard roux, loup, fouine, lynx européen, lapin, lièvre, Homme) (source : Otranto <i>et al.</i> , 2005c)	23
Figure 8 : association du nématode <i>Thelazia callipaeda</i> avec un mâle <i>Phortica variegata</i> . La flèche noire montre un kyste contenant une larve L2 de <i>T. callipaeda</i> et déformant la surface de la gonade mâle (testis). La barre d'échelle correspond à 200 µm (source : Otranto <i>et al.</i> , 2007b).....	24
Figure 9 : aspect microscopique de stades larvaires dans les utérus d'une femelle adulte <i>Thelazia callipaeda</i> . A : œufs embryonnés contenus dans la partie antérieure du corps de la femelle adulte <i>T. callipaeda</i> ; B : larves L1 incurvées contenues dans la partie moyenne du corps ; C : larve L1 contenues dans la partie postérieure du corps. La barre d'échelle correspond à 25 µm (source : Fuentes <i>et al.</i> , 2012).....	25

Figure 10 : distribution de <i>Thelazia callipaeda</i> en Europe en 2013. Les ronds noirs correspondent aux régions d'Europe où des cas autochtones de thélaziose due à <i>T. callipaeda</i> ont été décrits jusqu'en 2013. Il s'agit du nord et du sud de l'Italie, du sud-ouest de la France, du sud de la Suisse, du sud de l'Allemagne, du centre-ouest de l'Espagne près de la frontière portugaise et du nord du Portugal.....	31
Figure 11 : sécrétions muco-purulentes sur un chien infesté par <i>T. callipaeda</i>	37
Figure 12 : conjonctivite folliculaire sur un chien infesté par <i>Thelazia callipaeda</i>	38
Figure 13 : visualisation de plusieurs nématodes adultes <i>Thelazia callipaeda</i> à la surface de l'œil, dans le coin interne de l'œil d'un chien (source : Dr vétérinaire Noémie Siméon).....	39
Figure 14 : présence de vers adultes <i>Thelazia callipaeda</i> en face interne de la membrane nictitante d'un chien. Après instillation d'un collyre anesthésique, l'éversion de la membrane nictitante à l'aide d'une pince atraumatique laisse découvrir des vers adultes <i>T. callipaeda</i>	39
Figure 15 : piège à insecte suspendu à un tunnel de fraises du Périgord (source : Christophe Lesueur-Bayer HealthCare Animal Health)	45
Figure 16 : localisation des communes de Notre-Dame-de-Sanilhac (canton Saint Pierre de Chignac) et Vergt (canton de Vergt) dans le département de la Dordogne (source : fond de carte www.mapanddata.com)	58
Figure 17 : hyperhémie conjonctivale et sécrétions oculaires mucopurulentes sur un chien de l'étude atteint de thélaziose. Après instillation d'un collyre anesthésique, la membrane nictitante est éversée à l'aide d'une pince atraumatique ; des nématodes sont visibles à la surface de l'œil et derrière la membrane nictitante (source : Dr vétérinaire Noémie Siméon).....	62

Liste des Tableaux

Tableau 1 : éléments de classification de l'espèce <i>Thelazia callipaeda</i>	15
Tableau 2 : signes cliniques observés chez 43 chiens atteints une fois (à V1 ou au cours de l'étude) ou deux fois de thélaziose (à V1 et au cours de l'étude)	61

Tableau 3 : répartition des chiens atteints de thélaziose durant ou à la clôture de l'étude (Thélaziose +) et les chiens non atteints (Thélaziose -) selon leur groupe.....	63
Tableau 4 : répartition des chiens atteints de thélaziose durant ou à la clôture de l'étude (Thélaziose +) et les chiens non atteints (Thélaziose -).....	63
Tableau 5 : table comparative entre les chiens atteints de thélaziose durant ou à la clôture de l'étude (Thélaziose +) et les chiens non atteints (Thélaziose -) selon qu'ils soient dans le groupe A Advocate ou le groupe C Contrôle	64
Tableau 6 : table comparative entre les chiens du groupe A Advocate® ou du groupe C Contrôle et les chiens à poil court ou les chiens à poil moyen ou long	65
Tableau 7 : table présentant les p donnés par le test du Chi-2 quantifiant l'association brute entre chaque exposition et la présence de parasites.....	68

Liste des Annexes

Annexe 1 : cahier clinique.....	81
Annexe 2 : méthode d'identification des facteurs de confusion potentiels	97

INTRODUCTION

La thélaziose oculaire est une affection parasitaire due aux nématodes du genre *Thelazia*. Ces parasites se logent dans les culs-de-sac conjonctivaux ou dans les canaux lacrymaux. Il existe une dizaine d'espèces pathogènes pour les mammifères ou les oiseaux. *Thelazia callipaeda* et *T. californiensis* parasitent les carnivores domestiques et sauvages. L'espèce *T. callipaeda* est depuis longtemps décrite en Asie du sud-est et dans les républiques de l'ancienne URSS (d'où la dénomination anglaise « *oriental eyeworm* »). En Europe, le nombre de cas de thélaziose oculaire due à *T. callipaeda* est en augmentation et la parasitose est maintenant régulièrement décrite en Italie (dans les régions de Basilicata et du Piémont), en Suisse (dans la région du Tessin) (Malacrida *et al.*, 2008), en Espagne (Miró *et al.*, 2011) et au Portugal (Vieira *et al.*, 2012 ; Rodrigues *et al.*, 2012 ; Pimenta *et al.*, 2013 ; Soares *et al.*, 2013). Jusqu'en 2005, les rares cas de thélaziose oculaire observés en France correspondaient à des chiens qui avaient séjourné dans la vallée d'Aoste en Italie. Dorchies *et al.* (2007) ont été les premiers à décrire des cas autochtones de thélaziose dans le département de la Dordogne chez des animaux qui n'avaient jamais voyagé en Italie. Ruytoor *et al.* (2010) ont précisé la répartition géographique et temporelle des cas de thélaziose des carnivores domestiques dans le sud-ouest de la France. Au total, ce sont 117 cas de thélaziose oculaire qui ont été rapportés dans 22 cliniques au cours des années 2006, 2007 et 2008. La grande majorité des cas (89 %) provenait de Dordogne qui représente très clairement le foyer de thélaziose en France. Le canton de Vergt, où exerce le Docteur vétérinaire Olivier Pennant est le plus touché.

Le Dr Pennant présente ce jour dans sa patientèle de plus en plus de cas de thélaziose canine, à tel point que cette maladie parasitaire est devenue le premier motif de consultation ophtalmologique dans sa clinique. À ce jour, il n'existe pas de recommandations précises quant à la prévention de la thélaziose oculaire du chien. En janvier 2012, le service de Parasitologie de l'École Vétérinaire d'Alfort a proposé de réaliser un essai clinique visant à trouver un moyen de prévention de l'infestation, avec le soutien du laboratoire Bayer HealthCare Animal Health. Les Docteurs vétérinaires Olivier Pennant et Noémie Siméon (exerçant à Notre-Dame-de-Sanilhac à 14 km de Vergt) ont accepté de participer à cet essai clinique.

Dans un premier temps, nous rassemblerons les connaissances actuelles sur cette affection parasitaire touchant les annexes de l'œil. La deuxième partie de ce travail présentera la lutte contre les maladies vectorisées du chien d'une manière générale. Dans un dernier temps, nous présenterons l'essai clinique réalisé dans les cliniques des Docteurs vétérinaires Pennant et Siméon en Dordogne et nous discuterons de la valeur des résultats obtenus en les confrontant aux données actuelles de la thélaziose.

PREMIÈRE PARTIE :

LA THÉLAZIOSE OCULAIRE DU CHIEN

I- PRÉSENTATION DE THELAZIA CALLIPAEDA

1- Éléments de classification

Thelazia callipaeda appartient à la classe des nématodes : il s'agit d'un ver au corps allongé, à section ronde et possédant un tube digestif complet. Le dimorphisme sexuel est net, la femelle est toujours plus grande que le mâle. Leur tégument est recouvert d'une cuticule, leur croissance est donc discontinue et se fait par mues. L'ordre des Spirurida comprend des vers avec un œsophage présentant une portion glandulaire postérieure plus longue que la portion musculuse, une extrémité postérieure spiralée chez les mâles, avec deux spicules très inégaux. La famille des Thélaziidés se caractérise par des mâles dépourvus d'aile caudale. Les femelles du genre *Thelazia* sont vivipares. Le **tableau 1** expose la position systématique de l'espèce *T. callipaeda*.

Tableau 1 : éléments de classification de l'espèce *Thelazia callipaeda*
(source : Anderson, 2000 ; Bussiéras et Chermette, 1995)

Embranchement	Némathelminthes
Classe	Nématodes
Ordre	Spirurida
Superfamille	Thelazioida
Famille	Thélaziidés
Sous-famille	Thélaziinés
Genre	<i>Thelazia</i>
Espèce	<i>Thelazia callipaeda</i>

Le genre *Thelazia* comprend des parasites des annexes oculaires des oiseaux et des mammifères. Des 16 espèces connues appartenant au genre *Thelazia*, six d'entre elles concernent la médecine vétérinaire. *Thelazia rhodesi*, *T. skrjabini* et *T. gulosa* parasitent essentiellement les ruminants. *Thelazia lacrymalis* parasite les équidés. *Thelazia callipaeda* et *T. californiensis* parasitent les carnivores domestiques, sauvages, le lapin et l'Homme. L'espèce *T. californiensis* est présente en Amérique du Nord alors que *T. callipaeda* est depuis longtemps décrite dans le sud-est de l'Asie et dans les républiques de l'ancienne URSS (d'où la dénomination anglaise « *oriental eyeworm* ») (Anderson, 2000).

Par comparaison génétique, Liu *et al.* (2013) ont évalué la position phylogénétique de *T. callipaeda* par rapport à d'autres espèces appartenant à l'ordre des Spirurida : quelques séquences de génome mitochondrial de ces espèces étaient disponibles. Des analyses phylogénétiques portant sur les séquences d'acides aminés des 12 gènes codant des protéines ont montré que *T. callipaeda* avait un lien avec la famille des Onchocercidés (*Dirofilaria immitis*, *Setaria digitata*).

2- Caractéristiques anatomiques et morphologiques

Les adultes de *T. callipaeda* sont vermiformes, de couleur blanchâtre et présentent une section ronde (**figure 1**).

Figure 1 : aspect d'adultes de *Thelazia callipaeda* à la loupe binoculaire (grossissement x50)

(source : laboratoire départemental d'analyses et de recherche – Coulounieix Chamiers d'après Ruytoor, 2010)



Les critères d'identification de l'espèce *T. callipaeda* sont les suivants (Otranto *et al.*, 2003b) :

- la taille du nématode (1 à 1,5 cm de longueur),
- la présence d'une capsule buccale, dont les marges internes sont éversées et divisées par six festons donnant à la bouche une forme hexagonale (**figure 2**),
- la présence d'une cuticule avec des stries transversales (**figure 2**).

Figure 2 : aspect microscopique de la partie antérieure d'un nématode adulte
Thelazia callipaeda (source : Caron *et al.*, 2013)



Les nématodes adultes présentent des sexes séparés, distinguables morphologiquement à l'observation microscopique.

Les femelles mesurent de 12 à 18,5 mm de long et de 370 à 510 μm de large. La vulve présente un petit clapet et se situe dans la partie antérieure du corps. L'orifice anal se situe à 70-102 μm de l'extrémité caudale du corps. Le méat vaginal se situe à 62,0-162,2 μm rostralement à la jonction oesophago-intestinale (**figure 3**). Sur la moitié postérieure du corps, les tubules utérins sont remplis d'œufs embryonnés ou de larves. À l'extrémité de la queue, deux organes sensoriels sont présents, appelés phasmides (Shen *et al.*, 2006).

Figure 3 : aspect microscopique de l'extrémité antérieure d'une femelle *Thelazia callipaeda*. La vulve est localisée rostralement à la jonction oesophago-intestinale (source : Soares et al., 2013)

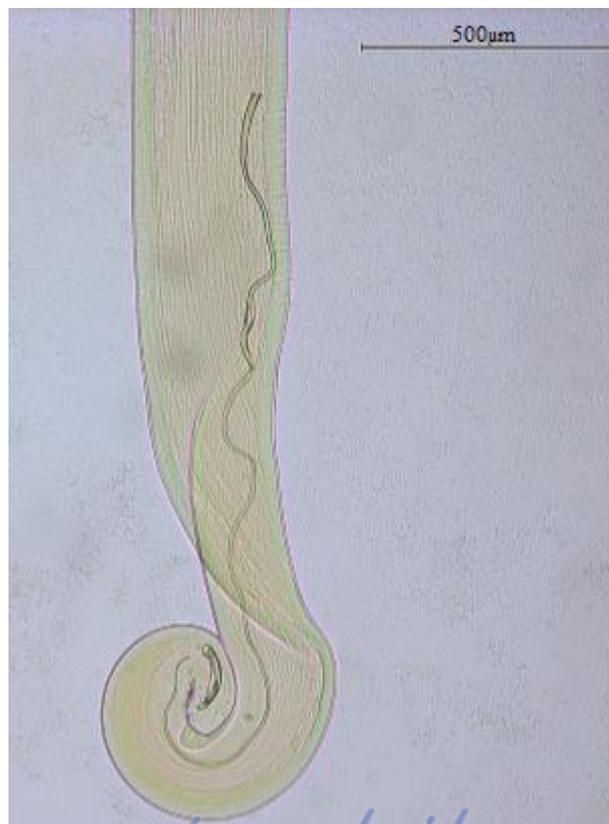


Les mâles mesurent de 7,7 à 12,8 mm de long et de 338 à 428 μm de large au milieu du corps. Les gonades se situent au milieu de la queue. L'extrémité caudale est incurvée ventralement, dépourvue d'aile caudale et possède quinze paires de papilles en partie ventrale. Dix d'entre elles sont pré-cloacales et cinq sont post-cloacales (**figure 4**). À l'extrémité caudale du corps, les deux spicules sont asymétriques (**figure 5**) : le gauche est long et présente une forme bien dessinée à l'extrémité antérieure, tandis que le droit est court et présente une forme de croissant (Shen *et al.*, 2006).

Figure 4 : aspect microscopique de l'extrémité caudale d'un mâle *Thelazia callipaeda*.
De larges papilles pré et post-cloacales sont présentes (source : Soares et al., 2013)



Figure 5 : aspect microscopique de l'extrémité caudale d'un mâle *Thelazia callipaeda*.
Deux spicules asymétriques sont présents (source : Soares et al., 2013)



3- Génétique

Les études génétiques sont d'une manière générale d'une grande aide pour identifier une espèce parasitaire, étudier sa biologie, son cycle de développement au sein d'un hôte intermédiaire ou d'un hôte définitif.

En 2004, Otranto et Traversa ont séquencé une région non codante de l'ADN ribosomal appelée ITS1 (*Internal Transcribed Spacer 1*) de cinq espèces appartenant au genre *Thelazia* (*T. callipaeda*, *T. gulosa*, *T. lacrymalis*, *T. rhodesi* et *T. skrjabini*). La longueur de cette séquence varie d'une espèce de *Thelazia* à une autre. Elle est de 905 paires de bases pour *T. callipaeda* avec des variations interspécifiques de la séquence allant de 35 à 77 %. Le séquençage et le polymorphisme d'ITS1 permettront d'avancer dans la classification de ces nématodes et dans leur identification moléculaire chez leurs hôtes définitifs et intermédiaires quel que soit leur stade de développement.

Au sein de l'espèce *T. callipaeda*, il n'existe pas de variation morphologique entre des spécimens prélevés dans différents pays et entre des spécimens prélevés sur différents hôtes définitifs. En 2005, Otranto *et al.* ont étudié la variabilité génétique de *T. callipaeda* entre les différents hôtes infestés et entre les continents d'Europe et d'Asie. Pour cela, ils ont eu recours à l'amplification par PCR (*polymerase chain reaction*) et au séquençage du gène codant la sous-unité 1 de la cytochrome *c* oxydase mitochondriale (*cox1*). L'étude a porté sur 50 spécimens de *T. callipaeda* prélevés sur 37 animaux d'Europe (des chiens, des renards et des chats d'Italie, d'Allemagne et des Pays-Bas) ainsi que sur 13 animaux d'Asie (des chiens de Chine et de Corée). Sur les 50 spécimens, le gène *cox1* a présenté la même longueur : 689 paires de bases. Il n'y a eu aucune insertion ni délétion de séquences entre les 50 nématodes. Huit séquences différentes du gène *cox1* ont été mises en évidence, correspondant aux huit haplotypes de l'espèce (h1 à h8). L'alignement de ces haplotypes a révélé des variations nucléotidiques : 22 transitions et une transversion à 23 localisations différentes le long du gène *cox1*. Il existe une grande diversité génétique dans l'espèce *T. callipaeda* parmi les 13 spécimens provenant d'Asie (huit haplotypes couvrant une vaste zone géographique). Tandis qu'un seul haplotype (h1) est retrouvé pour les 37 spécimens recrutés en Europe (sur différentes espèces animales et couvrant une plus petite zone géographique). Il existe une différenciation génétique entre les populations parasitaires d'Europe et d'Asie : six variations nucléotidiques le long du gène *cox1*.

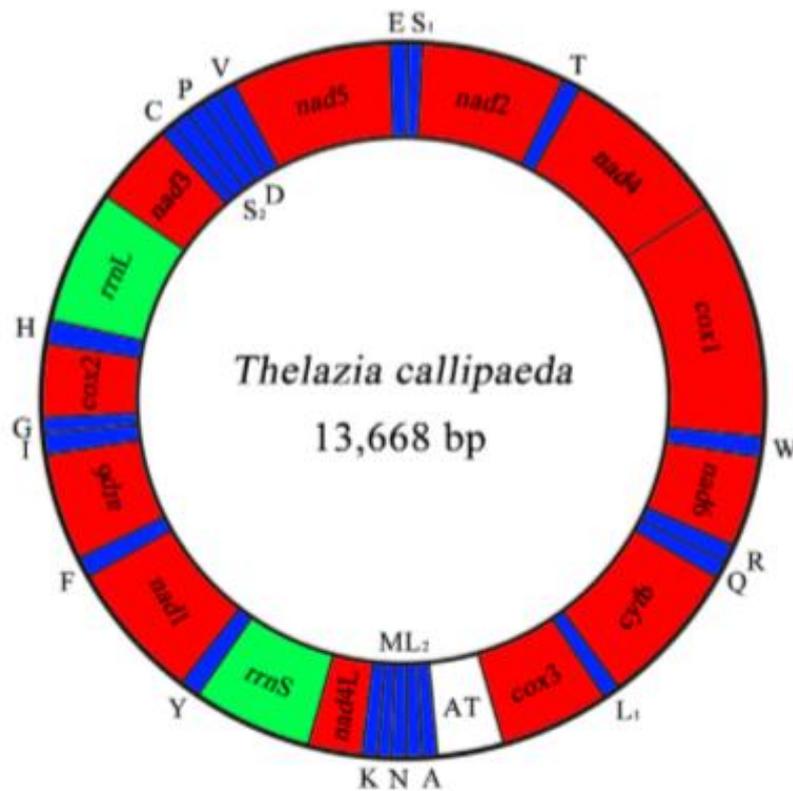
Otranto *et al.* (2005b) ont aussi réalisé sur 39 nématodes de l'étude une analyse SSCP (*single-strand conformation polymorphism*) de la région hypervariable du gène *cox1* (*v-cox1*), afin de comparer les résultats obtenus avec ceux du séquençage du gène *cox1*. Les résultats entre les deux techniques se sont révélés être concordants. Toutefois, la technique SSCP ne permet pas la différenciation de h3 et de h7 (il n'existe pas de variation nucléotidique dans la région *v-cox1* entre ces deux haplotypes). Cette étude a permis de valider un outil génétique simple et rapide (l'analyse SSCP), afin de déterminer la variabilité haplotypique dans les études concernant *T. callipaeda*.

La présence d'un seul haplotype (h1) dans les différents pays d'Europe touchés par la thélaziose et chez différents hôtes définitifs suggère une association étroite et une co-évolution entre le nématode et le vecteur.

En 2010, Magnis *et al.* ont cependant réalisé l'analyse génétique du gène *cox1* d'un des vers adultes récoltés sur un chien atteint de thélaziose dans le sud de l'Allemagne : cette analyse a révélé l'existence d'un nouvel haplotype, qui diffère de 1,3 % de l'haplotype 1.

En 2013, Liu *et al.* ont séquencé le génome mitochondrial de *T. callipaeda*, le premier à l'être dans la famille des Thélaziidés. Ce génome est composé de 13 668 paires de bases, est circulaire et il contient 12 gènes codant des protéines, 22 gènes codant des ARN transférases, deux gènes codant de l'ARN ribosomal et une région non-codante (**figure 6**). Cette étude permet l'élaboration de marqueurs génétiques qui permettront d'étudier davantage l'épidémiologie, l'écologie, les populations génétiques et systématiques du parasite.

Figure 6 : organisation du génome mitochondrial de *Thelazia callipaeda*. Le génome contient 12 gènes codant des protéines (*cox1-3*, *nad1-6*, *nad4L*, *atp6*, *cytb*), 22 gènes codant des ARN transférases, deux gènes codant de l'ARN ribosomal (*rrnL*, *rrnS*) et une région non-codante (AT) (source : Liu *et al.*, 2013)



4- Cycle évolutif

La biologie du développement larvaire a été reconstituée grâce à la dissection des vecteurs infestés et grâce à l'observation de la morphologie des stades larvaires au sein de leurs corps. Toutefois, la dissection des drosophiles reste un travail long, difficile et fastidieux.

Description des étapes du cycle et de la morphologie des stades larvaires

Le cycle de *T. callipaeda* est un cycle hétéroxène comprenant un hôte définitif (mammifère) et un hôte intermédiaire (arthropode non-piqueur), dans lequel le développement larvaire du nématode a lieu. Ce vecteur biologique n'est pas hématophage.

Au total, 847 mouches vectrices ont été infestées expérimentalement par des larves L1 de *T. callipaeda*, conservées à différentes températures et disséquées jusqu'à 180 jours post-infestation. Cela a permis de décrire le développement larvaire du parasite au sein de son vecteur (Otranto *et al.*, 2005c).

Dans l'œil de l'hôte définitif, les femelles adultes *T. callipaeda*, vivipares, donnent naissance à des larves L1 dans les sécrétions lacrymales. À l'occasion d'un repas de sécrétions oculaires, les larves L1 sont ingérées par le vecteur (hôte intermédiaire), puis pénètrent dans son abdomen en quelques heures. Présentes à J1 dans le vecteur, les larves L1 migrent à travers la cavité coelomique et s'enkystent au niveau des gonades chez les mâles (J2-3) et au niveau du tissu graisseux abdominal chez les femelles (J4). La capsule forme un bombement à la surface des gonades des vecteurs mâles (**figure 8**). Chez les femelles, le kyste est relié par un pédicule à l'intérieur de la cavité abdominale. Dans le kyste, la larve L1 est incurvée et est en forme de « C », sa partie postérieure est plus pointue et fine par rapport à sa partie antérieure, elle mesure moins de 100 µm (**figure 9**).

Une seconde capsule apparaît autour de la larve L1 (J5-6). La forme de L1 est toujours incurvée. Son tube digestif commence à se développer et présente deux élargissements en partie caudale, une vésicule est visible au niveau de l'anus. La larve prend une forme dite « en saucisse », il s'agit en fait de la larve L2 qui mesure environ 200 µm.

La larve L2 perd sa première capsule (J9-10) et mesure environ 300 µm. Un tube digestif primitif apparaît.

À J11-12, la larve est filiforme. Son tractus alimentaire est presque complet. Les stries sur la cuticule apparaissent progressivement. Il s'agit du stade L3 pré-infestant, il mesure environ 2,24 mm ± 0,093 mm.

De J10 à J14, chaque partie anatomique de la larve L3 devient complète, l'appareil génital devient visible dans l'abdomen et la larve commence à être mobile. Puis, la larve L3 perd sa capsule dans l'hémocœle du vecteur, migre jusqu'aux pièces buccales de celui-ci en traversant le thorax et la tête. La larve L3 est longue et mesure 2,5 à 3,2 mm ± 0,91-0,98 mm. Son appareil génital est développé : les gonades mâles sont très étendues, les deux utérus également (Anderson, 2000).

De J14 à J17, on voit apparaître les premières larves L3 dans la trompe du vecteur. La mue en larve L3 varie de 14 à 21 jours (moyenne de 17 jours) post-infestation en fonction de la température. La durée du développement des larves dans le vecteur est en effet dépendante de la température : plus la température est importante, plus les larves L3 apparaissent vite. Les larves L3 infestantes sont ensuite déposées dans les culs-de-sac conjonctivaux et dans le film lacrymal des hôtes définitifs à l'occasion d'un repas du vecteur. Les L3 infestantes réalisent une mue en L4 après une semaine. Les larves L4 réalisent une ultime mue pour donner des adultes mâles à J13-14 post-infestation de l'hôte

définitif et des adultes femelles à J22-25 post-infestation. L'utérus des femelles est rempli d'œufs contenant des larves L1 à ce stade (Otranto *et al.*, 2005c).

La **figure 7** rassemble toutes les étapes du cycle de *T. callipaeda*.

Figure 7 : cycle évolutif de *Thelazia callipaeda*. L1 : larves de *T. callipaeda* au stade 1 de son développement ; L3(i) : larves au stade 3 qui correspondent aux formes infestantes ; HI : hôte intermédiaire (*P. variegata* démontrée en Europe) ; HD : hôte définitif (chien, chat, renard roux, loup, fouine, lynx européen, lapin, lièvre, Homme) (source : Otranto *et al.*, 2005c)

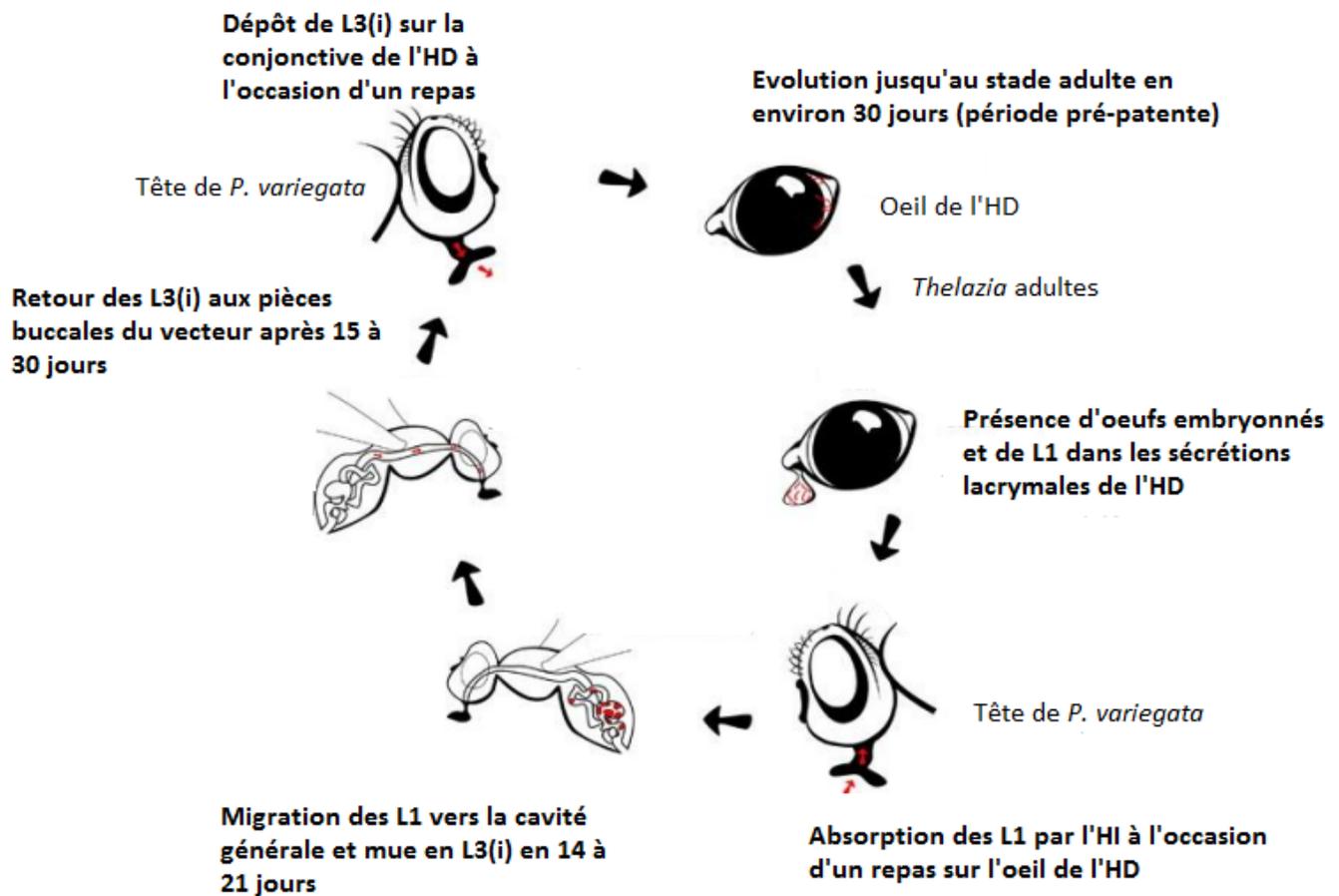


Figure 8 : association du nématode *Thelazia callipaeda* avec un mâle *Phortica variegata*.

La flèche noire montre un kyste contenant une larve L2 de *T. callipaeda* et déformant la surface de la gonade mâle (testis). La barre d'échelle correspond à 200 μm (source : Otranto *et al.*, 2007b)

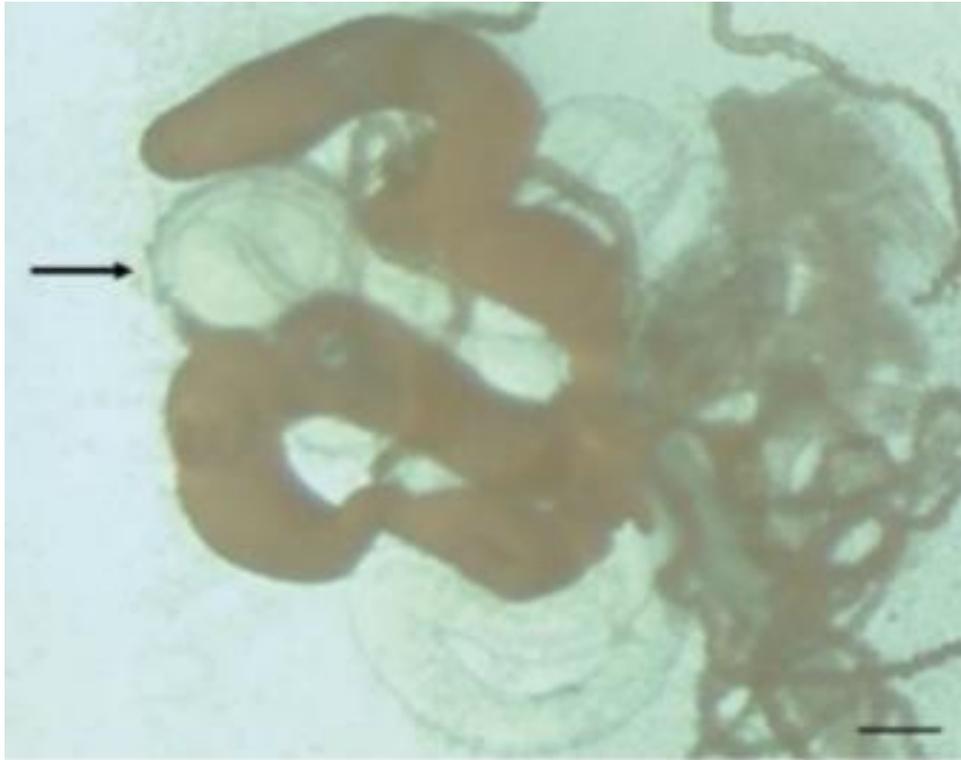
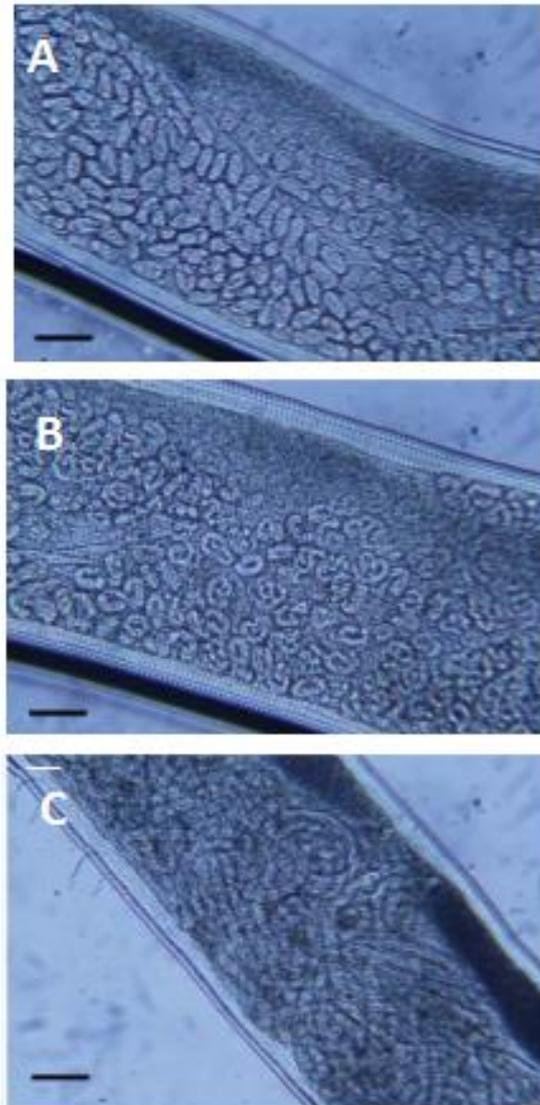


Figure 9 : aspect microscopique de stades larvaires dans les utérus d'une femelle adulte *Thelazia callipaeda*. A : œufs embryonnés contenus dans la partie antérieure du corps de la femelle adulte *T. callipaeda* ; B : larves L1 incurvées contenues dans la partie moyenne du corps ; C : larve L1 contenues dans la partie postérieure du corps. La barre d'échelle correspond à 25 µm (source : Fuentes *et al.*, 2012)



Il existe deux pics d'infestation : un au début de l'été (parasites adultes obtenus après le processus d'« overwintering » décrit plus loin) et un à la fin de l'été (nématodes adultes développés à partir de stades larvaires déposés par le vecteur dans les yeux en début d'été) (Otranto et Traversa, 2005).

Non synchronisation du développement des stades larvaires

En 2005(c), Otranto *et al.* ont mis en évidence la présence de larves de *T. callipaeda* au niveau des pièces buccales du vecteur à des stades différents de développement : des larves L3 infestantes sont retrouvées au même titre que des larves L2 ou L3 pré-

infestantes. Le développement des larves dans le corps du vecteur n'est ainsi pas forcément synchronisé. Cela pourrait s'expliquer par des variations de deux à quatre jours dans chaque stade de développement du parasite ainsi que par des variations de la température extérieure.

Identification de l'hôte intermédiaire de *T. callipaeda* en Europe

Le cycle biologique de *T. callipaeda* n'est connu que depuis quelques années. À l'heure actuelle, il existe peu d'informations concernant les diptères non-piqueurs, vecteurs de parasitoses, et peu d'études ont été menées à ce sujet.

Ces dernières années, les diptères appartenant au genre *Phortica* ont été le sujet de nombreuses études visant à identifier le vecteur et l'hôte intermédiaire des espèces du genre *Thelazia* (Otranto *et al.*, 2003a, 2005c, 2006a,b ; Dorchies *et al.*, 2007 ; Roggero *et al.*, 2010). En 2003(a), Otranto *et al.* ont suggéré l'existence de plusieurs vecteurs de *T. callipaeda* dans le Monde, dans la mesure où le parasite est présent dans des pays présentant des climats très différents (des pays d'Asie à l'Italie). Dans les pays d'Asie, *Phortica magna*, *P. okadai* et *Amiota nagatai* sont des vecteurs d'espèces du genre *Thelazia* (Máca, 1977 ; Okada, 1968, 1971 cités par Otranto *et al.*, 2012). D'après Otranto *et al.* (2005a), plusieurs espèces de diptères ont été suggérées au départ comme vecteurs de *T. callipaeda* en Chine: *Musca domestica* (Muscidés) et *Amiota okadai* Maca (Drosophilidés). *Musca domestica* s'est révélée être quelques fois naturellement infestée par *T. callipaeda* (Shi *et al.*, 1988 d'après Otranto *et al.*, 2005c). Toutefois, une étude réalisée par Otranto *et al.* (2005a) a montré que *Musca domestica* ne représentait pas un vecteur du parasite en Europe.

Otranto *et al.* (2005c) ont montré que *P. variegata* et *P. okadai* jouaient le rôle de vecteur de *T. callipaeda* respectivement dans le sud de l'Europe et en Chine. Ces deux espèces présentent des similitudes : leur milieu de vie est un climat humide aux mêmes latitudes. Toutefois, l'altitude à laquelle ces vecteurs sont retrouvés est différente.

En Europe, *P. variegata* assure un rôle de vecteur biologique à la fois en conditions naturelles et expérimentales (Otranto *et al.*, 2005c, 2006a).

Roggero *et al.* (2010) ont montré la présence de mouches du genre *Phortica* dans la partie nord des Alpes, en Suisse. Cela suggère que ces mouches sont l'hôte intermédiaire du parasite dans cette zone géographique enzootique. Aucune mouche *Amiota* n'a été récoltée à proximité d'œil d'un hôte définitif potentiel dans cette zone mais un biais est possible car *Amiota* est moins attirée par les yeux et plus par le vin ou la bière.

La présence en Suisse de *P. variegata* et la démonstration que ce diptère joue un rôle de vecteur de *T. callipaeda* en Italie suggèrent que cette drosophile soit aussi le vecteur et hôte intermédiaire du nématode en Suisse (Otranto *et al.*, 2006a ; Roggero *et al.*, 2010). Toutefois, il se peut qu'il existe d'autres espèces vectrices du nématode encore non démontrées ce jour.

Caractéristiques du vecteur

Phortica variegata appartient à la Famille des Drosophilidés. La plupart des espèces de drosophiles se nourrissent de fruits et de légumes ce qui leur vaut la dénomination de « fruitfly ». La particularité de *P. variegata* réside dans le fait qu'en plus de se nourrir de fruits, elle se nourrit aussi de sécrétions lacrymales (Bächli *et al.*, 2004 d'après Otranto *et al.*, 2012). Ce régime particulier aurait pour origine l'infestation du vecteur par *T. callipaeda*. Elle aurait « poussé » le vecteur à modifier ses habitudes alimentaires : le parasite affaiblirait le vecteur, et celui-ci serait donc tenté par des ressources alimentaires plus disponibles telles que les sécrétions lacrymales de mammifères (Otranto *et al.*, 2005c).

Roggero *et al.* (2010) ont capturé 1 695 drosophiles autour des yeux d'humains ou d'animaux ou avec des pièges disposés à proximité de fruits. Les drosophiles femelles sont prédominantes dans les pièges près des fruits (72,6 % des *Phortica*), les mâles deviennent dominants plus tard dans la saison, en octobre : ratio mâle/femelle = 1,26. En outre, 80,2 % des drosophiles récoltées autour des yeux d'humains ou d'animaux étaient des mâles. Aucune femelle n'a été récoltée de cette façon jusqu'en septembre. Les drosophiles *Phortica* se nourrissent de sécrétions oculaires principalement de juillet à octobre (2^{ème} moitié de la saison) en lien avec leur besoin nutritif ou bien la présence d'une majorité de mâles à cette période.

En 2012, Otranto *et al.* ont démontré que la durée d'un cycle de développement de *P. variegata* est dépendante de la température extérieure : elle est plus courte lorsqu'une température importante règne dans l'environnement (28°C) et plus longue à des températures plus basses (14°C). Cela pourrait expliquer la diminution de fertilité des drosophiles collectées tôt dans le printemps ou tard dans l'automne, due aux changements de saison (basses températures). Aucun œuf n'a été pondu par les femelles *P. variegata* au mois d'octobre : ceci peut être relié à leur entrée en pré-hibernation. Le ratio mâle/femelle (0,48) dans une des cages de l'étude a permis la naissance de nombreuses drosophiles, ce qui suggérerait que la capacité reproductive est améliorée lorsque les femelles sont deux fois plus nombreuses que les mâles. Aucune femelle n'a été collectée au mois de septembre : cela serait dû à une différence de comportement entre les mâles et les femelles à la fin de la période de reproduction (vulnérabilité des femelles vis-à-vis des prédateurs lorsqu'elles pondent les œufs et au fort coût énergétique demandé par le développement des œufs et par la ponte).

Otranto *et al.* (2006b) ont déterminé les conditions géoclimatiques de survie du vecteur *P. variegata* : température comprise entre 20 et 25°C et sous une humidité relative de 50 à 75 % (correspondantes aux périodes de fin de printemps et début d'automne). Le modèle de niche écologique a suggéré qu'une grande partie de l'Europe, en particulier le centre, serait propice à la survie et au développement de *P. variegata* et ces zones pourraient, par conséquent, devenir des aires enzootiques d'infestation par *T. callipaeda*.

Saisonnalité

Les vecteurs du genre *Phortica* sont actifs du mois d'avril au mois d'octobre (Otranto *et al.*, 2005c). Cela est confirmé par la présence de larves L4 dans l'œil d'hôtes définitifs en mars, avril, juillet et octobre. Ainsi, la mue de L3 en L4 nécessitant sept à neuf jours, la larve L3 a donc été déposée dans l'œil de l'hôte un peu avant que L4 soit observée. Par

conséquent, les vecteurs sont actifs depuis le début du printemps jusqu'au début de l'automne.

Les larves L1 sont présentes dans les sécrétions lacrymales de chiens infestés pendant le printemps, l'été et au début de l'automne : elles sont prêtes à être ingérées par le vecteur, en correspondance avec la période d'activité de *Phortica*.

Par conséquent, la durée d'un cycle de *T. callipaeda* dans l'hôte définitif (déterminée par la présence de larves L1 dans les sécrétions lacrymales) coïncide avec la présence et la période d'activité du vecteur.

Hôtes définitifs de *T. callipaeda*

D'après l'article d'Otranto *et al.* (2003a), Faust a inoculé des nématodes adultes dans les yeux de différents animaux en 1928 afin de déterminer les hôtes définitifs potentiels. L'étude a révélé que les nématodes sont adaptés au chien, au lapin, au chat et au singe. La chèvre et le mouton ne semblent en revanche pas être sensibles à ce parasite.

L'hôte définitif peut être un carnivore domestique ou sauvage, un lagomorphe ou l'Homme. Des études ont mis en évidence la présence d'hôtes définitifs de *T. callipaeda* dans la faune sauvage en Europe. Otranto *et al.* (2007a) ont montré les premiers que le parasite pouvait infester les loups (*Canis lupus*). Dans la région de Basilicata en Italie du sud (région enzootique), Otranto *et al.* (2009) ont montré que certains mammifères sauvages participent à l'entretien et la propagation du nématode. Le parasite a été recherché sur des carcasses d'animaux sauvages : 75 renards (*Vulpes vulpes*), deux loups (*Canis lupus*), 22 fouines (*Martes foina*), 13 lièvres (*Lepus europaeus*), 10 blaireaux (*Meles meles*) et huit chats sauvages (*Felis silvestris*). Les autopsies sur les blaireaux n'ont mis en évidence aucun parasite. Des parasites ont été retrouvés sur 40 % des autres animaux sauvages : quatre adultes thélazies ont été retrouvés en moyenne par animal. Cette étude a montré que la prévalence de la thélaziose chez les renards dans le sud de l'Italie (49,3 %) est plus importante que dans le nord de l'Italie (5,1 %) (Otranto *et al.*, 2003a) ou en Suisse (5,6 %) (Malacrida *et al.*, 2008).

Otranto *et al.* (2009) ont suggéré l'idée qu'il pourrait exister une correspondance entre les périodes d'activité du vecteur *P. variegata* et celles de ces mammifères sauvages. En effet, *P. variegata* est active tôt dans la matinée, au crépuscule et inactive aux heures les plus chaudes de la journée (Otranto *et al.*, 2006b). Les animaux sauvages retrouvés infestés par *T. callipaeda* (renard, loup, fouine, lièvre et chat sauvage) ont principalement des habitudes nocturnes, mais également une certaine activité diurne qui varie au cours des saisons. Le blaireau, qui s'est révélé être non infesté par le nématode, a lui une activité exclusivement nocturne et vit dans un terrier ce qui limiterait tout contact avec la drosophile vectrice.

Rossi *et al.* (2002) ont montré que parmi des nématodes prélevés sur des renards en Italie dans la région du Piémont, la proportion de nématodes femelles matures/immatures variait au cours de l'année. La dernière femelle immature a été observée au début du mois de décembre et la première au mois de juin. Aucune femelle immature n'a été présente du mois de janvier au mois de mai. Pendant l'été, les auteurs ont compté 75,9 % de femelles immatures, ce pourcentage a diminué en automne jusqu'à 18,7 % et en hiver jusqu'à 2,4 %.

En 2013, Calero-Bernal *et al.* ont décrit les deux premiers cas de thélaziose due à *T. callipaeda* chez des renards roux (*Vulpes vulpes*) au sud-ouest de l'Espagne, dans la ville de Cáceres. Des femelles gravides ainsi que des mâles matures de *T. callipaeda* ont été retrouvés dans les yeux de ces renards.

El-Dakhly *et al.* (2012) ont rapporté des cas de thélaziose chez des Lynx européens (*Lynx lynx*) retenus en captivité dans un zoo au Japon.

Les hôtes définitifs, connus à l'heure actuelle, que le parasite peut infester, sont des carnivores domestiques (chien, chat), des carnivores sauvages (chat sauvage, renard roux, loup, fouine, lynx européen), des lagomorphes (lapin, lièvre) et plus rarement l'Homme.

5- Répartition géographique de *T. callipaeda*

a- Europe

L'Italie a été le premier pays d'Europe où la thélaziose a été mise en évidence. Puis des foyers ont été décrits en France, en Suisse et plus récemment en Espagne et au Portugal.

Italie

La présence enzootique de *T. callipaeda* dans deux régions d'Italie chez le chien, le chat et le renard a été mise en évidence : région du Piémont (nord-ouest) et région de Basilicata (sud). La prévalence dans le nord de l'Italie dans la région du Piémont est de 23,1 % et dans le sud de l'Italie dans la région de Basilicata de 41,8 %. Une prévalence chez les chiens de 60,1 % dans la commune d'Accettura dans la région de Basilicata a été estimée (Rossi et Bertaglia, 1989 ; Otranto *et al.*, 2003a).

France

Jusqu'en 2005, les rares cas de thélaziose oculaire observés en France correspondaient à des chiens qui avaient séjourné dans la vallée d'Aoste en Italie (Chermette *et al.*, 2004). Les tous premiers cas autochtones ont été observés dans le centre de la Dordogne en 2005. Cette découverte a conduit à la mise en place d'enquêtes épidémiologiques. En Dordogne, Dorchies *et al.* (2007) ont été les premiers à décrire des cas de thélaziose chez des animaux qui n'avaient jamais voyagé en Italie. En 2008, Bourdeau *et al.* ont conduit une étude dans 11 départements proches de la Dordogne. La thélaziose s'est révélée être présente dans trois départements : la Dordogne (dans 14 cliniques), la Vienne (un petit foyer) et le Lot-et-Garonne (un cas isolé). D'après la thèse vétérinaire de Ruytoor (2010) et d'après l'article de Guillot *et al.* (2011), la répartition géographique et temporelle des cas de thélaziose de 2006 à 2008 chez les carnivores domestiques dans le sud-ouest de la France (16 départements) a été étudiée. Au total, 117 cas (115 chiens et deux chats) de thélaziose ont été décrits dans 22 cliniques. Les cliniques vétérinaires touchées par au moins un cas de thélaziose étaient localisées en Dordogne (104 cas), Gironde (six), Lot et Garonne (une), Tarn et Garonne (une), Ariège (une), Haute Garonne (une), Puy de Dôme (une), Pyrénées-

Atlantiques (une), Tarn (une). La grande majorité des cas (89 %) provient de Dordogne qui représente très clairement le foyer de thélaziose en France. Dans le département de la Dordogne, le canton de Vergt était le plus touché : 60 cas de thélaziose décrits dans la patientèle du Dr vétérinaire Olivier Pennant.

Suisse

Le premier cas de thélaziose canine en Suisse a été décrit en 2000 dans le sud du pays (dans le canton du Tessin). Depuis l'année 2000, le nombre de cas de thélaziose dans cette région a progressivement augmenté. Malacrida *et al* (2008) ont confirmé la présence enzootique de thélaziose dans cette région de la Suisse avec une prévalence de 6,2 % chez le chien et 11,1 % chez le renard.

Espagne

D'après l'article de Miró *et al.* (2011), Montoya *et al.* (2011) ont décrit le premier cas de thélaziose canine survenu en juin 2010 dans le centre-ouest de l'Espagne, dans la ville de Cáceres (région de La Vera). Miró *et al.* (2011) ont montré que 39,9 % des chiens vivant dans sept villes de la région de La Vera étaient infestés par *T. callipaeda*. Parmi les chiens infestés, 4,4 % avaient voyagé dans d'autres régions de l'Espagne (pays Basque, Catalogne, Valence, Madrid, Murcie, Grenade) et seulement deux chiens avaient voyagé à l'étranger (l'un au Maroc et l'autre au Portugal).

D'après l'article de Vieira *et al.* (2012), Bello-Gavete *et al.* (2012) ont décrit dans les villes d'Orense et de Salamanca respectivement 135 et neuf cas de thélaziose canine. Ces deux villes contiguës au nord du Portugal pourraient être à l'origine de la propagation de la maladie dans ce pays.

Portugal

Vieira *et al.* (2012) ont décrit neuf cas de thélaziose canine au nord du Portugal, à la frontière espagnole. Ces cas étaient répartis dans deux cliniques vétérinaires : à Chaves (six cas) et à Bragança (trois cas). Les chiens vivaient dans les villes contiguës de Chaves, Vinhais et Bragança et n'avaient jamais voyagé à l'étranger (d'où l'hypothèse d'une infestation autochtone). Dans cette étude, la prévalence de la thélaziose a été estimée approximativement à 0,7 %. Cette faible prévalence pourrait s'expliquer par une introduction récente du nématode dans cette région du Portugal. Toutefois, cette prévalence est possiblement sous-estimée car les chiens sont diagnostiqués que lorsqu'ils sont présentés en consultation vétérinaire avec des signes oculaires. Il est possible qu'un grand nombre de chiens soient infestés dans cette région du Portugal mais asymptomatiques. En 2012, Rodrigues *et al.* ont décrit le premier cas de thélaziose féline autochtone au nord-est du Portugal, dans la ville de Macedo de Cavaleiros. Le chat n'avait jamais voyagé à l'étranger. En 2013, Pimenta *et al.* ont rapporté un cas chez un Berger Allemand, dans la ville de Vila Real, au nord du Portugal. Soares *et al.* (2013) ont décrit un cas autochtone de thélaziose féline dans le centre du Portugal, dans la ville de Coimbra. Le chat n'avait jamais voyagé dans les zones enzootiques de thélaziose.

Autres pays

En 2010, Magnis *et al.* ont décrit un cas autochtone de thélaziose canine dans le sud de l'Allemagne, dans le nord-est de la Bade-Wurtemberg, à 10 km de la frontière française. Depuis, aucun autre cas n'a été décrit et il est peu probable qu'un foyer de thélaziose existe actuellement en Allemagne.

D'après Caron *et al.* (2013), Janssens et Claerebout ont décrit en 2006 un cas de thélaziose chez un chien ayant voyagé auparavant dans la région de Lombardie en Italie. Caron *et al.* (2013) ont par la suite rapporté deux cas de thélaziose canine en Belgique. Les deux chiens avaient déjà voyagé dans des zones enzootiques de thélaziose : sud-ouest de la France et sud de l'Italie. D'après le modèle géoclimatique du vecteur *P. variegata* établi par Otranto *et al.* (2006a), le vecteur pourrait survivre et se développer en Belgique. Toutefois, sa présence n'a encore jamais été mise en évidence.

Otranto *et al.* (2005b) ont décrit aux Pays-Bas un cas de thélaziose canine à *T. callipaeda*. Le chien avait passé trois mois dans le département de la Dordogne.

La **figure 10** illustre la distribution du parasite en Europe en 2013.

Figure 10 : distribution de *Thelazia callipaeda* en Europe en 2013. Les ronds noirs correspondent aux régions d'Europe où des cas autochtones de thélaziose due à *T. callipaeda* ont été décrits jusqu'en 2013. Il s'agit du nord et du sud de l'Italie, du sud-ouest de la France, du sud de la Suisse, du sud de l'Allemagne, du centre-ouest de l'Espagne près de la frontière portugaise et du nord du Portugal.



Hypothèses sur la propagation du parasite en Europe

Rossi et Bertaglia (1989) puis Otranto *et al.* (2003a) ont émis des hypothèses sur l'origine du parasite en Italie :

- par importation du parasite chez un hôte définitif depuis l'Asie (chien, chat) ; le parasite aurait trouvé en Italie un vecteur avec lequel finir son cycle biologique, des hôtes définitifs et un environnement propice à son développement ;
- par importation du vecteur infesté par *T. callipaeda* depuis l'Asie ;
- par infestation autochtone en Italie des chiens et des chats par un réservoir sauvage sylvestre encore méconnu au moment de leur étude.

Les deux premières hypothèses ne paraissent pas plausibles concernant la région de Basilicata dans le sud de l'Italie, car cette région est montagneuse, difficile d'accès, avec très peu d'échanges commerciaux.

Guillot *et al.* (2011) et Ruytoor *et al.* (2010) se sont interrogés à propos de l'introduction du vecteur en Dordogne en 2005 :

- *via* un chien qui s'est infesté dans les régions d'enzootie en Italie ou en Suisse lors d'un voyage puis qui est revenu en Dordogne ;
- *via* l'introduction d'animaux sauvages infestés par *T. callipaeda*, la faune sauvage pouvant entretenir le cycle d'après l'étude d'Otranto *et al.* (2009). L'hypothèse d'importation de lièvres infestés pour la chasse en Dordogne depuis des régions atteintes semble la plus probable ;
- *via* la dispersion de vecteurs infestés, mais l'hypothèse a été réfutée car le vecteur n'est pas assez résistant et n'est pas connu pour pouvoir être dispersé par le vent.

D'après Otranto *et al.* (2009), les mammifères sauvages infestés par *T. callipaeda*, de par leur migration naturelle à travers les Alpes, joueraient un rôle important dans la propagation du parasite depuis la région de Basilicata en Italie jusqu'aux pays européens voisins. En particulier, le renard présente une dynamique territoriale avec une faible densité de population : les individus adultes de même sexe se séparent et créent leur propre territoire (à une distance de plus de 100 km). L'organisation sociale du loup est complexe : un groupe est formé d'un couple reproducteur, de leurs petits et des individus de rang social inférieur. Ce groupe occupe un territoire très vaste : plus de 800 km. À l'âge de la maturité sexuelle, entre 22 et 24 mois, les individus quittent le groupe, cherchent un nouveau territoire pour s'y reproduire à leur tour. En outre, les ressources naturelles en Italie sont faibles (manque de proies, d'habitats naturels) et incitent ces animaux sauvages à se disperser pour garantir la survie des espèces.

Otranto *et al.* (2013a) ont exposé d'une manière générale les causes de propagation des maladies parasitaires vectorisées dans des zones préalablement non enzootiques. Cette propagation s'explique par des paramètres biologiques et écologiques du vecteur, par sa capacité à réaliser des cycles biologiques. L'introduction de vecteurs en Europe a pour origine des éléments démographiques (la croissance des villes), des mouvements internationaux de personnes (voyageurs, réfugiés), des trafics d'animaux sauvages, le commerce d'animaux et de marchandises (Colwell *et al.*, 2010 cités par Otranto *et al.*, 2013a). La propagation de ces maladies en Europe est attribuée au fait que les vecteurs se

propagent géographiquement et que leur densité de population augmente : interaction entre la disponibilité d'hôtes appropriés, adaptation du vecteur à des conditions environnementales différentes, comportement alimentaire et préférences d'hôtes (Root *et al.*, 2003 ; Purse *et al.*, 2005 cités par Otranto *et al.*, 2013a). En Europe, le réchauffement climatique pourrait permettre aux vecteurs de coloniser de nouvelles aires géographiques.

Plusieurs hypothèses quant à l'existence de régions indemnes de thélaziose géographiquement proches de zones enzootiques sont avancées. Par exemple, dans l'étude de Malacrida *et al.* (2008), aucun cas de thélaziose chez les chiens et les renards tués n'a été rapporté dans la partie nord du canton du Tessin, mais cette différence régionale n'est pas significative. Il est possible que le parasite ne se soit pas encore propagé dans cette partie du canton, ou que la transmission du parasite par le vecteur soit limitée par les conditions climatiques régnant dans cette zone, ou que ce soit dû à une population canine moins importante et une altitude plus importante. Les Alpes peuvent aussi présenter une barrière à la propagation du parasite dans la partie nord du canton du Tessin.

b- Autres continents

La thélaziose canine due à *T. callipaeda* a déjà été décrite dans les anciennes républiques de l'URSS, en Indonésie, en Thaïlande, en Chine, en Corée, en Birmanie, en Inde et au Japon (Bhaibulaya *et al.*, 1970 ; Chou, 1980 ; Kosin *et al.*, 1989 ; Hong *et al.*, 1995 cités par Otranto *et al.*, 2003a). En 1988, Shi *et al.* ont montré que la prévalence de thélaziose canine en Chine dans la province de Hubei était plus importante (37 chiens infestés sur 39) que dans les autres provinces de Chine étudiées jusque là. En 2006, Yang *et al.* ont décrit un cas de thélaziose canine à Taïwan.

II- ÉPIDÉMIOLOGIE

1- Sources de parasites

L'hôte intermédiaire et les hôtes définitifs représentent les sources de parasites.

Hôte intermédiaire

En Europe, la drosophile *P. variegata* est le seul hôte intermédiaire de *T. callipaeda* connu à l'heure actuelle. *Phortica okadai* est l'hôte intermédiaire du nématode en Chine (Otranto *et al.*, 2005c, 2006a).

Hôtes définitifs

Les hôtes définitifs de *T. callipaeda* sont nombreux : carnivores domestiques (chien, chat), carnivores sauvages (chat sauvage, renard roux, loup, fouine, lynx européen), les lagomorphes et les humains (Otranto *et al.*, 2003a, 2007a, 2009 ; El-Dakhly *et al.*, 2012).

D'après Shen *et al.* (2006), Seo *et al.* (2002) ont défini le principal réservoir du parasite les chiens vivant dans une ferme, ayant accès souvent ou en permanence à l'extérieur et présentant donc un contact privilégié avec le vecteur.

2- Modes de transmission

Les vecteurs infestent l'hôte définitif en se nourrissant de ses sécrétions lacrymales et en y déposant en même temps des larves infestantes L3. L'originalité de la transmission de la thélaziose due à *T. callipaeda* réside dans le fait que seuls les vecteurs mâles transmettent le parasite. Dans les autres parasitoses vectorisées par des insectes hématophages, ce sont les femelles qui ont pour rôle de transmettre le parasite.

Transmission par les vecteurs mâles

Otranto *et al.* (2006) ont étudié le rôle de *P. variegata* dans la transmission de la thélaziose canine en conditions naturelles. Ils ont examiné les préférences alimentaires de ce vecteur (légumes et/ou sécrétions lacrymales) et la dynamique des populations de *P. variegata* afin d'établir un lien avec les productions saisonnières et le comportement du parasite. Pour cela, des adultes *P. variegata* ont été collectés à proximité de fruits ou bien autour des yeux d'humain. Les drosophiles ont été identifiées et disséquées à la loupe binoculaire et analysées par des méthodes moléculaires (PCR). Seules les drosophiles mâles se sont révélées être porteuses de larves L2 et L3 de *T. callipaeda* à la dissection. Les drosophiles recueillies autour des yeux d'humain étaient uniquement des mâles, alors que les drosophiles recueillies autour de fruits présentaient un ratio mâle/femelle de 1/4. Par conséquent, les mâles *P. variegata* ont un rôle d'hôte intermédiaire dans la transmission du parasite *T. callipaeda* en Europe en conditions naturelles.

Toutefois, Otranto *et al.* (2005c) ont montré que les femelles vectrices pouvaient être infestées expérimentalement par le parasite. Ce n'est donc pas leur anatomie qui les empêche d'être infestées et de propager le parasite, mais bien leurs habitudes alimentaires. Le mâle se nourrit de sécrétions oculaires et de larmes des animaux sauvages et domestiques. Tandis que les femelles se nourrissent uniquement de fruits et de légumes. Cela pourrait être relié à des facteurs environnementaux et biologiques : les mâles auraient besoin d'une supplémentation protéique (Otranto *et al.*, 2006a).

3- Résistance

Otranto *et al.* (2005c) ont infesté expérimentalement *P. variegata* avec des larves L1 au mois d'octobre. La présence de larves L3 au mois d'avril dans les drosophiles 180 jours post-infestation met en évidence le phénomène « d'overwintering ». Il s'agit d'un « portage hivernal » ou diapause larvaire autorisant la survie du parasite durant l'hiver. La présence de larves L3 dans les yeux de chiens dès le début du printemps, c'est-à-dire lors de la sortie d'hibernation du vecteur, confirme ce phénomène. Chez l'hôte définitif, les femelles nématodes survivent jusqu'à neuf mois et commencent à libérer des larves L1 dès le début du printemps, c'est-à-dire dès la reprise d'activité du vecteur. Les larves L1 se trouvent dans l'utérus des nématodes femelles pendant le reste de l'année. La présence d'œufs embryonnés et de larves dans l'utérus durant l'hiver peut s'expliquer par le fait que ces larves seront libérées au printemps suivant et durant l'été, dès que le vecteur se

réactivera (Otranto *et al.*, 2004). Réciproquement, l'absence d'œufs embryonnés chez les femelles nématodes du mois de mai au mois d'octobre pourrait être due au fait qu'elles luttent pour libérer les larves L1 tant que le vecteur est actif durant cette période.

Il existe deux modalités dans le phénomène de diapause larvaire (Otranto *et al.*, 2005c) :

- mode endogène : les femelles nématodes survivent durant l'hiver dans les yeux d'hôtes définitifs infestés et présenteraient un métabolisme réduit en relation avec une faible température régnant dans le milieu extérieur ;
- mode induit : le métabolisme de la drosophile vectrice diminue en relation avec le processus d'hibernation.

4- Réceptivité et sensibilité

Le nématode présente une très grande affinité pour le vecteur (seule *P. variegata* est connue en Europe pour jouer ce rôle à l'heure actuelle) mais n'est pas spécifique d'hôtes définitifs (carnivores domestiques et sauvages, lagomorphes, Homme...).

Espèce infestée

Dans leur étude réalisée en Suisse dans le canton du Tessin, Malacrida *et al.* (2008) ont montré une faible prévalence de la maladie chez les chats. Cela pourrait s'expliquer par le fait que leur petite masse corporelle soit moins attractive pour les mouches vectrices du parasite et que leur comportement de toilettage régulier permettrait d'éliminer plus fréquemment les sécrétions oculaires et donc attirerait moins les vecteurs. Ces résultats ont pu être biaisés par le fait que les praticiens ont pu présenter plus de difficultés à réaliser un examen oculaire approfondi sur les chats que sur les chiens (Otranto *et al.*, 2003a).

Taille du chien

Malacrida *et al.* (2008) ont montré que la prévalence de la maladie était moindre parmi les chiens appartenant à des races de petite taille qu'à des races de moyenne et de grande taille. La prévalence moins importante de thélaziose chez les chiens de petite race pourrait s'expliquer par leur petite masse corporelle, moins attractive pour les drosophiles vectrices du parasite.

Miró *et al.* (2011) ont de même remarqué que les chiens de grande taille (>30 kg) étaient plus fréquemment infestés (43 %), que les chiens de taille moyenne (15-30 kg) (39,3 %) et que les chiens de petite taille (<15 kg) (30,1 %).

Accès des chiens à l'extérieur

Concernant la prévalence plus importante de la maladie chez des chiens de grande taille, Miró *et al.* (2011) ont interprété cela par le fait que les chiens de grande race vivent plus fréquemment à l'extérieur du foyer par rapport aux chiens de plus petite race. L'accès à l'extérieur favoriserait le contact entre le chien et la mouche vectrice de *T. callipaeda*.

D'après la thèse vétérinaire de Ruytoor (2010) et d'après l'article de Guillot *et al.* (2011), 77 % des carnivores infestés de leur étude vivaient en milieu rural dont 19 % au sein d'une ferme.

Chiens vivant à proximité de zones de production de fraises

D'après Ruytoor *et al.* (2010), les cas de thélaziose canine et féline diagnostiqués en Dordogne semblaient rassembler un point commun : les animaux vivaient en zones productrices de fruits tels que fraises, prunes et pommes. La production de fraises du Périgord est incluse dans une indication géographique protégée (IGP). Tous les cas de thélaziose révélés par l'enquête étaient compris dans des cantons de cette IGP des fraises du Périgord. Les cantons où la production de fraises est la plus importante se sont retrouvés être les plus touchés par cette parasitose. Guillot *et al.* (2011) ont suggéré l'idée que le département de la Dordogne offrirait à la drosophile *P. variegata* un environnement adéquat et propice à son développement : l'activité fraisicole est maximale de mi-mai à fin octobre, cette période concorde avec l'activité de cette drosophile. Dorchies *et al.* (2007) ont confirmé cette hypothèse : la plupart des animaux infestés dans leur étude étaient originaires d'une zone de production fraisicole près du village de Vergt.

Par conséquent, l'accès à l'extérieur du chien, la proximité du lieu de vie avec des cultures de fruits et la taille du chien semblent être des facteurs de risque de thélaziose. En revanche, aucune influence du sexe, de l'âge ou de la race du chien n'a été mise en évidence avec la présence de parasites dans les études réalisées jusque là (Otranto *et al.*, 2003a ; Miró *et al.*, 2011).

III- POUVOIR PATHOGÈNE DES THÉLAZIES ET SIGNES CLINIQUES DE LA THÉLAZIOSE

1- Pouvoir pathogène

La cuticule du nématode adulte présente des stries transversales. Le pouvoir pathogène de *T. callipaeda* provient de l'irritation mécanique provoquée par ces stries sur les conjonctives et sur la surface de l'œil, par les mouvements du nématode, et par la présence de stades larvaires (Otranto et Traversa, 2005). Cette irritation favoriserait les sécrétions oculaires, ce qui favoriserait la propagation du parasite *via* les larves L1 contenues dans les sécrétions.

2- Signes cliniques

D'après Shen *et al.* (2006), Wang et Yang (1985) ont montré que des lapins infestés expérimentalement avec des nématodes adultes de *T. callipaeda* développaient dans les trois à cinq heures post-infestation une importante réaction inflammatoire, mais que cette réaction diminuait progressivement après une semaine. Cela expliquerait le grand nombre d'animaux infestés mais qui sont asymptomatiques. D'après les études de Malacrida *et al.* (2008) et Miró *et al.* (2011), de 15,4 % à 81,4 % des chiens infestés par le nématode présentent des signes cliniques. Le nombre de vers adultes présents dans l'œil ne semble pas être corrélé à la sévérité des signes cliniques présentés. L'absence de symptômes peut

s'expliquer par un faible nombre de nématodes ou par une infestation par des adultes mâles seulement (l'absence de larve ferait que l'infestation est mieux supportée).

La présence de *T. callipaeda* dans les culs-de-sac conjonctivaux occasionne des signes lésionnels (hyperhémie conjonctivale, inflammation de la cornée, chémosis, ulcères cornéens, cécité) et/ou des signes cliniques liés à la douleur (larmoiement, photophobie, blépharospasme). L'atteinte peut être unilatérale ou bilatérale (Anderson, 2000 ; Otranto et Traversa, 2005).

Les chiens infestés présentent la plupart du temps des sécrétions séreuses, muco-purulentes ou purulentes, une conjonctivite folliculaire et une hyperplasie des tissus lymphoïdes (Ruytoor *et al.*, 2010) (**figures 11 et 12**). Des pétéchies des conjonctives, un œdème palpébral, un larmoiement (Miró *et al.*, 2011), une kératite ou des ulcères cornéens sont souvent décrits (Dorchies *et al.*, 2007).

Figure 11 : sécrétions muco-purulentes sur un chien infesté par *T. callipaeda*
(source : Dr vétérinaire Noémie Siméon)

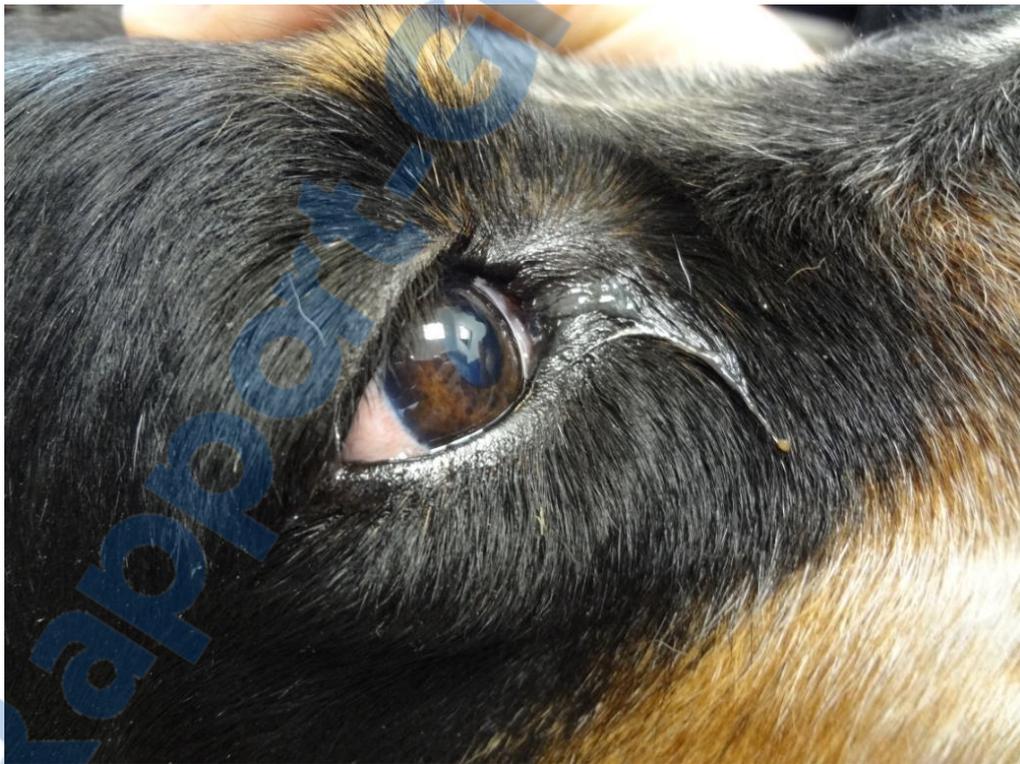


Figure 12 : conjonctivite folliculaire sur un chien infesté par *Thelazia callipaeda*
(source : Dr vétérinaire Noémie Siméon)



La sensation de corps étranger peut entraîner du prurit puis secondairement une infection des paupières, des conjonctives et/ou de la cornée. L'épiphora peut provenir de l'obstruction des canaux lacrymaux par des nématodes adultes.

IV- DIAGNOSTIC

Le diagnostic est posé dès lors que des nématodes adultes à la surface de l'œil, sous les paupières ou dans les conduits lacrymaux sont visualisés (**figure 13**). Les parasites sont de couleur blanchâtre, mobiles et mesurent de 1 à 1,5 cm de long. Le diagnostic peut s'avérer plus compliqué si peu d'adultes sont présents, s'ils sont présents dans les canaux excréteurs des glandes lacrymales, ou si seuls les stades larvaires sont présents.

Figure 13 : visualisation de plusieurs nématodes adultes *Thelazia callipaeda* à la surface de l'œil, dans le coin interne de l'œil d'un chien (source : Dr vétérinaire Noémie Siméon)



Pour visualiser les nématodes adultes sous les paupières, l'instillation d'un collyre anesthésique est nécessaire. Des parasites peuvent être cachés sous la membrane nictitante, c'est pour cela qu'il est indispensable de l'éverser afin d'effectuer une recherche approfondie (**figure 14**). Sur certains animaux, l'anesthésie locale peut ne pas être suffisante et une tranquillisation ou une anesthésie générale doit être envisagée (Hamy et Belais, 2013).

Figure 14 : présence de vers adultes *Thelazia callipaeda* en face interne de la membrane nictitante d'un chien. Après instillation d'un collyre anesthésique, l'éversion de la membrane nictitante à l'aide d'une pince atraumatique laisse découvrir des vers adultes *T. callipaeda*
(source : Dr vétérinaire Noémie Siméon)



L'identification de l'espèce est réalisée sous microscope après éclaircissement au lactophénol d'après des critères morphologiques établis par Skrjabin *et al.* (1967) et Bhaibulaya *et al.* (1970) (cités par Otranto *et al.*, 2003a). Pour les enquêtes épidémiologiques, la confirmation peut être apportée par séquençage du gène codant la sous-unité 1 de la cytochrome oxidase mitochondriale (gène *cox1*) (Otranto *et al.*, 2005b). Le diagnostic de thélaziose à *T. callipaeda* est aussi réalisable par visualisation microscopique des larves L1 contenues dans les sécrétions oculaires. Ce dernier examen est toutefois peu réalisé en pratique (Shen *et al.*, 2006).

Le diagnostic différentiel des conjonctivites comprend une conjonctivite allergique, une conjonctivite folliculaire, une dacryocystite, un corps étranger, une anomalie de pousse des cils (trichiasis, distichiasis, cil ectopique), une infestation par *T. callipaeda*...

V- TRAITEMENT

Il est généralement recommandé de retirer manuellement les nématodes adultes et de rincer abondamment avec du sérum physiologique ou tout nettoyant oculaire, car le nématode peut avoir une action mécanique irritative et abrasive pour l'œil. Le retrait manuel est possible sur animal sédaté ou bien anesthésié localement. Il est ensuite indispensable d'administrer un traitement anthelminthique en complément pour détruire les larves restantes et prévenir une éventuelle réinfestation.

1- Retrait manuel

La première étape est l'instillation d'un anesthésique local. La deuxième étape consiste en un rinçage abondant de l'œil avec du sérum physiologique (NaCl 0,9 %) ou avec un nettoyant oculaire et en la récolte des nématodes adultes à l'aide d'une pince mousse (atraumatique) et/ou d'écouvillons. L'objectif est de retirer la plus grande quantité de nématodes possible. Le rinçage avec du sérum physiologique peut aider à la récolte des adultes mais aussi à l'élimination des larves du parasite présentes dans les sécrétions oculaires et non visibles à l'œil nu. Il est nécessaire d'être très précautionneux et de ne pas engendrer de lésions oculaires : si l'animal n'est pas coopératif, le traitement médical seul est préconisé.

2- Traitement médical

Les macrolides antiparasitaires (aussi appelés lactones macrocycliques) comptent les avermectines (ivermectine, doramectine...) et les milbémycines (moxidectine, milbémycine oxime...). Il s'agit d'antibiotiques dérivés de *Streptomyces*. Les voies d'administration de ces macrolides sont multiples et la toxicité pour les mammifères est généralement faible.

Ivermectine

L'efficacité de l'injection par voie sous-cutanée d'ivermectine 1 % à la posologie de 200 µg/kg a été démontrée (Rossi et Peruccio, 1989 cités par Otranto *et al.*, 2003a). La présence de propylène glycol dans certaines spécialités peut causer une douleur et des lésions tissulaires au site d'injection (Biancardi et Otranto, 2005).

L'ivermectine entraîne l'ouverture des canaux chlorures dans les synapses nerveuses à relais acide γ -aminobutyrique (GABA), d'où un effet agoniste du GABA : cela a pour conséquence une paralysie flasque du parasite. Cet effet n'a pas lieu sur les mammifères (donc sur l'animal traité) car les synapses à relais GABA ne se rencontrent que dans le système nerveux central où l'ivermectine ne pénètre pas (à l'exception des chiens de race Colley et des chiens apparentés à cette race) (Calero-Bernal *et al.*, 2014).

Moxidectine

Dans la mesure où la thélaziose est une parasitose des annexes de l'œil, l'instillation par voie topique d'un principe actif semble être un traitement adapté à cette parasitose. D'après Cazalot et Siméon (2008), Lia *et al.* (2004) ont montré l'efficacité de la moxidectine par voie topique. L'instillation hors AMM de moxidectine à 1 % (Cydectine 1 %[®] Fort Dodge, formulation injectable pour bovin) à la dose de deux gouttes par œil a entraîné la mort des parasites en moins de deux minutes.

Biancardi et Otranto (2005) ont montré que l'application en *spot-on* hors AMM de moxidectine à 2,5 % et d'imidaclopride à 10 % (Advocate[®]) est efficace à 90,5 % cinq jours après le traitement et à 95,2 % neuf jours après le traitement chez des chiens naturellement infestés. Un groupe de chiens non traités dans cette étude et un groupe de chiens traités en *spot-on* avec de l'imidaclopride 10 % (Advantage[®]) ont été constitués. Tous les chiens de ces groupes sont encore infestés après neuf jours : cela indique que le principe actif efficace vis-à-vis de *T. callipaeda* dans la spécialité Advocate[®] est bien la moxidectine à 2,5 % et non l'imidaclopride à 10 %.

Une marge de sécurité chez les Colleys et races apparentées a été établie avec la moxidectine à une posologie de 30 µg/kg (Paul *et al.*, 2000 cités par Biancardi and Otranto, 2005 et Calero-Bernal *et al.*, 2014).

En remarque, la posologie efficace pour le traitement de la thélaziose est de 1 mg/kg pour l'espèce féline. La formulation Advocate[®] Chien *spot-on* est d'ailleurs différente de celle du chat (moxidectine à 2,5 % pour le chien *versus* moxidectin 1 % pour le chat).

Milbémycine oxime

La milbémycine oxime possède le même mode d'action que la moxidectine, mais elle est administrée par voie orale.

Ferroglio *et al.* (2008) ont montré que l'administration de milbémycine oxime (Interceptor[®]) par voie orale à la posologie minimale de 0,5 mg/kg chez des chiens naturellement infestés présentait une réduction du nombre de nématodes de 87,3 % sept jours après le traitement et de 98,2 % 14 jours après le premier traitement (un deuxième

traitement a été administré sept jours après le premier). L'efficacité du traitement apparaît comme étant dose-dépendante : une dose inférieure à 0,68 mg/kg n'est pas efficace, une dose de 0,70 mg/kg est efficace à 95,8 % et une dose de 0,86 mg/kg est efficace à 100 %. La posologie de 0,5 mg/kg correspond à celle recommandée pour le traitement de l'infestation par *Dirofilaria immitis* (agent responsable de la dirofilariose cardio-pulmonaire du chien). Cette posologie ne semble pas suffire dans le traitement de la thélaziose.

Sur des chiens et des chats naturellement infestés en Suisse et en Italie, Motta *et al.* (2012) ont montré l'efficacité hors AMM de l'association milbémycine oxime/praziquantel (Milbémax®) par voie orale à la dose minimale de 0,5 mg/kg chez le chien et de 2 mg/kg chez le chat. Chez le chien, l'efficacité a été de 72,7 % et 90,9 % respectivement après un ou deux traitements, administrés à une semaine d'intervalle. Chez le chat, l'efficacité a été de 53,3 % et 73,3 % respectivement après un ou deux traitements, administrés également à une semaine d'intervalle. L'avantage de ce traitement réside dans le fait que l'association praziquantel/milbémycine oxime offre un large spectre par voie orale, en particulier vis-à-vis des cestodes et de nombreux nématodes.

Mébendazole

Les Colleys et les races apparentées (telles que le Shetland, le Berger Australien, le Border Collie, le Bobtail...) peuvent présenter une sensibilité génétique aux lactones macrocycliques telles que l'ivermectine à cause de la mutation du gène *MDR-1*.

Calero-Bernal *et al.* (2014) ont eu pour objectif de trouver un traitement efficace contre la thélaziose et supporté par ces races de chiens sensibles aux macrolides. L'étude a montré l'efficacité du mébendazole sur trois Border Collies issus de la même ferme dans le sud-ouest de l'Espagne à la frontière portugaise à San Vicente de Alcantara. Les chiens ont été traités par voie orale avec du mébendazole à la posologie de 20 mg/kg/j (Telmin®) pendant trois jours consécutifs. Aucun nématode n'a été retrouvé sur les trois chiens durant plusieurs semaines post-traitement.

Le mébendazole appartient à la famille des benzimidazoles. Il agit sur les parasites en inhibant la synthèse de leurs microtubules.

Doramectine

Au Portugal, Soares *et al.* (2013) ont traité le chat infesté de leur étude avec une formulation de 1 % de doramectine par voie sous-cutanée (Dectomax®) à J0 et J14. Même après six mois de suivi en consultation vétérinaire, le chat n'était plus infesté.

De la même façon que l'ivermectine, la doramectine possède un effet agoniste du GABA avec pour conséquence une paralysie flasque du parasite. Il faut être prudent chez les chiens de race Colley et chiens de race apparentée, où la doramectine peut pénétrer le système nerveux central au niveau duquel des synapses à relais GABA sont présentes.

De plus, des antibiotiques et des corticostéroïdes par voie topique peuvent être ajoutés au traitement anthelminthique en cas de symptômes oculaires majeurs et pour prévenir toute contamination bactérienne.

VI- PRÉVENTION ET CONTRÔLE

La prévention de la thélaziose est importante dans la mesure où cette parasitose est une zoonose et qu'il existe ainsi un risque que la prévalence de thélaziose humaine, parallèlement à la thélaziose des carnivores domestiques, augmente en Europe dans les prochaines années. La prévention peut être réalisée sur la population canine vivant en zone d'enzootie. Le contrôle du parasite *T. callipaeda* semble être plus facile que celui du vecteur *P. variegata* : la biologie et l'écologie de ce vecteur sont en effet encore mal connues en Europe et il se peut qu'il existe d'autres vecteurs de *T. callipaeda* en Europe.

1- Vis-à-vis de *T. callipaeda*

Une période à risque allant de juillet à septembre pour la contamination humaine et des carnivores en zone enzootique a été déterminée (Otranto *et al* 2006a) ; cette information se fonde sur l'observation d'un pic dans la population des vecteurs (drosophiles *P. variegata* mâles) à cette période. En pratique, la prophylaxie doit donc être commencée en juin et poursuivie jusqu'à l'automne.

Moxidectine

D'après la thèse de Ruytoor (2010), Rossi *et al.* (2007) ont proposé en Italie (zone d'enzootie) l'injection unique d'une formulation de moxidectine à libération prolongée (Guardian®) à la dose de 0,17 mg/kg en début de période à risque. Les chiens traités au mois de juin ne se ré-infestent pas durant la période à risque (l'étude s'est terminée au mois de janvier suivant), tandis que des chiens traités par un collyre à base de moxidectine 1 % (Cydectine®) se contaminent de nouveau pour 34,4 % d'entre eux au cours de cette même période. La posologie de 0,17 mg/kg de moxidectine est celle recommandée pour la prévention longue durée de la dirofilariose canine due à *D. immitis*.

Milbémycine oxime

Ferroglio *et al.* (2008) ont été les premiers à trouver un moyen de prévention contre la thélaziose. Leur étude a montré que l'administration mensuelle de milbémycine oxime (Interceptor®) par voie orale à la posologie minimale de 0,5 mg/kg chez des chiens sains vivant en zone d'enzootie du mois de juin au mois de novembre réduisait de 90 % l'infestation par *T. callipaeda*. Cette posologie correspond à celle recommandée pour la prévention de l'infestation par *D. immitis* sous le climat du sud de l'Europe (Guerrero *et al.*, 2002 cités par Ferroglio *et al.*, 2008).

2- Vis-à-vis de *P. variegata*

Une surveillance vétérinaire couplée à une surveillance entomologique de la drosophile *P. variegata* est nécessaire pour prévenir la propagation du parasite *T. callipaeda*.

a- Molécules insecticides

Des insecticides de la famille des pyréthrinoïdes peuvent être utilisés dans la lutte vis-à-vis de *P. variegata*. Les pyréthrinoïdes agissent sur les canaux sodiques de la membrane des cellules nerveuses. Leur action est très rapide, d'où la dénomination d'effet « *knock down* ». L'insecte tombe très vite mais ne meurt pas de suite.

En pratique, ces molécules sont utilisées sous différentes formes : en colliers, en lotions, en *spot on*, en plaquettes d'oreilles pour les bovins... Elles sont stables à la lumière.

En prenant l'exemple de la lutte bien connue contre la mouche *Musca domestica* dans les stabulations d'animaux de rente (bovins, poulets, porcs...), des mesures dirigées contre les larves ou contre les adultes peuvent être entreprises. Les mesures anti-larvaires comprennent l'utilisation de régulateurs de croissance tels que le méthoprène, la cyromazine, le triflumuron ou le pyriproxifène. Toutefois, la formulation de ces molécules est aujourd'hui adaptée aux élevages bovins, porcins ou aviaires et non aux individus de l'espèce canine individuellement. L'hygiène des ordures ménagères est également un point important dans la lutte contre les larves de *M. domestica*. Les mesures anti-imaginaires comprennent l'utilisation d'insecticides tels que les pyréthrinoïdes ou les organosphosphorés. Des formulations « *pour-on* » de deltaméthrine, de cyfluthrine et de cyperméthrine existent pour les bovins et assurent une protection efficace pendant deux à trois semaines contre les mouches non piqueuses de la tête et pendant quatre à cinq semaines contre les mouches non piqueuses du corps (polycopié d'entomologie du service de Parasitologie de l'ENVA).

b- Pièges mécaniques dans les cultures de fraises

Lors de la visite de clôture de l'essai clinique réalisé lors de ce travail de thèse, le Dr Pennant, vétérinaire exerçant à Vergt dans le département de la Dordogne, nous a fait part d'échos venant de propriétaires de chiens et d'agriculteurs de la région. En 2012, des pièges à insectes ont été mis en place dans certaines cultures, notamment dans les cultures de fraises (**figure 15**).

Figure 15 : piège à insecte suspendu à un tunnel de fraises du Périgord (source : Christophe Lesueur-Bayer HealthCare Animal Health)



c- Programmes de traitement contre la mouche *Drosophila suzukii* par la chambre d'agriculture

D'après le bulletin de Santé du Végétal écrit par la chambre d'agriculture en janvier 2012, un programme de piégeage de *Drosophila suzukii* a été mis en place en cultures de fraisiers. Il ne s'agit pas de la même espèce que la drosophile vectrice de *T. callipaeda*. Toutefois, les deux diptères appartiennent à la même Famille. Nous pouvons donc penser que la lutte mécanique contre *D. suzukii* puisse agir en défaveur de *P. variegata*. Au cours de ce programme mené par la chambre d'agriculture, *D. suzukii* s'est révélée être présente dans les départements de la Dordogne et du Lot-et-Garonne. Les effectifs piégés étaient faibles (entre un et 12 individus piégés par semaine). La chambre d'agriculture a recommandé l'installation de pièges dans les parcelles de fraisiers (particulièrement dans les exploitations où des dégâts avaient été constatés les années précédentes) et des observations régulières afin d'anticiper l'arrivée de cette drosophile dans les cultures. La mise en place de mesures prophylactiques suivantes a été préconisée :

- trier les fraises lors de la récolte ;
- sortir les fruits atteints de la parcelle et les détruire ;
- enlever les débris végétaux de la culture et les brûler (selon la législation de la commune).

Selon les Docteurs vétérinaires Pennant et Siméon, il y a eu moins de cas de thélaziose canine que les années précédentes durant le printemps, l'été et l'automne 2012. Cela pourrait être relié à la mise en place de pièges mécaniques contre les insectes dans les cultures fruitières et aux programmes de lutte contre les insectes menés par la chambre d'agriculture.

VII- CONTAMINATION HUMAINE

La thélaziose humaine est une parasitose sous-diagnostiquée (Shen *et al.*, 2006). Deux espèces appartenant au genre *Thelazia* peuvent infester l'Homme : *T. callipaeda* et *T. californiensis*.

Le premier cas de thélaziose humaine due à *T. callipaeda* a été décrit en Chine, à Pékin (Stuckey, 1917 cité par Shen *et al.*, 2006). Puis, cette maladie a été retrouvée dans les républiques de l'ancienne URSS, en Chine, en Corée du sud, au Japon, en Indonésie, en Thaïlande, à Taïwan et en Inde. Récemment, en 2012, un cas a été décrit au Vietnam (Van De *et al.*, 2012) puis un autre en 2013 au Bangladesh (Akhandia *et al.*, 2013). Cette répartition dans le sud-est de l'Asie et en ex-URSS a valu au nématode le surnom « *d'oriental eyeworm* » (Anderson, 2000). La thélaziose à *T. callipaeda* est aujourd'hui présente de façon enzootique dans des pays sous-développés d'Asie, en particulier en Chine (Otranto et Traversa, 2005).

Dans les régions enzootiques de thélaziose canine en Europe, quatre cas humains ont été décrits : deux cas dans le nord-ouest de l'Italie et deux cas dans le sud-ouest de la France (Otranto et Dutto, 2008). Les patients étaient masculins, trois d'entre eux n'avaient jamais voyagé, le dernier avait voyagé dans la région du Piémont en Italie trois semaines avant l'apparition des signes cliniques. Ces cas ont été décrits durant les mois d'été (juin, juillet et août), ce qui correspond à la période d'activité du vecteur. Cette période d'apparition est primordiale à prendre en compte, dans la mesure où les conjonctivites allergiques chez l'Homme apparaissent à la même période : il est donc indispensable d'introduire la thélaziose à *T. callipaeda* dans le diagnostic différentiel de l'œil rouge à cette période de l'année. Le seul traitement chez l'humain correspond au retrait manuel des nématodes (Shen *et al.*, 2006). La prévention consiste en l'utilisation de moustiquaires autour du lit des enfants et d'avoir une bonne hygiène du visage et du contour des yeux.

En 2012, Fuentes *et al.* ont reporté un cas de thélaziose humaine en Espagne dans la province de Cáceres.

D'après Kosin *et al.* (1989), Arizono *et al.* (1976), Chou (1980) (cités par Otranto et Traversa, 2005), la thélaziose humaine serait liée :

- à la présence de chiens infestés dans l'environnement proche des humains ;
- à l'âge des personnes : 61 % des thélazioses touchent des personnes âgées et des enfants entre trois et six ans. En effet, les enfants de moins de six ans sont les plus touchés par la thélaziose en Chine (64,2 %) (Shen *et al.*, 1979 ; Zhonhua, 1980 ; Jiang *et al.*, 1991 cités par Shen *et al.*, 2006). Ensuite, 7,8 % des cas de thélaziose touchent des individus âgés de sept à 18 ans, 19,0 % touchent des individus de plus de 19 ans. En 1988, dans l'étude de Shi *et al.*, 91 % des patients atteints de thélaziose en Chine dans la province de Hubei étaient âgés de moins de quatre ans.

- aux conditions climatiques avec une population de vecteurs qui peut être abondante et des enfants qui cherchent l'ombre sous les arbres, où se trouvent ces vecteurs.

Aujourd'hui, on estime que 45 % de la population humaine en Europe est exposée à la contamination par des helminthes vectorisés tout comme leurs animaux domestiques ou de compagnie (Petrić *et al.*, 2012 cités par Otranto *et al.*, 2013a).

Rapport-Gratuit.com

DEUXIÈME PARTIE :
LA LUTTE VIS-À-VIS DES MALADIES
VECTORISÉES CHEZ LE CHIEN

Dans cette partie, nous exposerons les méthodes de lutte contre les maladies vectorisées chez le chien de manière générale. Nous ne prenons plus l'exemple précis de la thélaziose due à *T. callipaeda*, car ces méthodes de lutte ne sont pas encore bien connues à l'heure actuelle.

I- LUTTE ANTIVECTORIELLE

D'après le polycopié d'entomologie du service de Parasitologie de l'ENVA, la lutte antivectorielle consiste en des mesures offensives et des mesures défensives.

1- Mesures offensives

Les mesures offensives consistent à tarir la ou les source(s) d'arthropodes et de détruire les formes de passage de ces arthropodes.

a- Tarissement des sources de parasites

Pour tarir les sources de parasites, l'animal doit être traité de façon stratégique en fonction des périodes, du climat, du pays... Toutefois, le traitement des animaux sauvages reste très peu réalisé et souvent très difficile.

b- Destruction des formes de passage

Pour détruire les formes de passage, il existe plusieurs modalités : physique et mécanique, chimique, écologique et biologique.

Destruction physique et mécanique

Il s'agit de l'utilisation de pièges, de déshydratants par des substances minérales comme les poudres ou les gels de silice qui provoquent la dessiccation de l'insecte.

Destruction chimique

Il s'agit d'une lutte par pulvérisation, épandage. Il faut porter une attention particulière pour le reste de la faune et pour l'environnement. De plus, il y a un manque de sélectivité, un développement possible de chimiorésistance et des risques pour les denrées consommées par l'Homme.

Destruction écologique

Il s'agit de modifier l'environnement du vecteur pour que le milieu de vie ne soit plus propice à sa survie. Dans l'exemple du paludisme, il s'agit de drainer/assécher des zones humides. Le déboisement et le débroussaillage sont des moyens de lutte contre les tiques. Une inondation temporaire permet de lutter contre les glossines, l'écobuage contre les tiques. Les méthodes de destruction des gîtes larvaires sont aussi envisageables.

Destruction biologique

Cette lutte est difficile à mettre en œuvre et consiste à utiliser des ennemis naturels du vecteur, à éliminer des endosymbiontes d'insecte (si le vecteur ne peut pas se passer de lui pour vivre, par exemple *Dirofilaria immitis* avec les rickettsies *Wolbachia*), à utiliser des phéromones, des régulateurs de croissance des insectes (*Insect Growth Regulator*) et à diffuser des mâles stériles (pour les espèces de vecteur qui ne s'accouple qu'une seule fois, dont l'élevage en laboratoire est aisé et dont la stérilisation ne perturbe pas la viabilité).

2- Mesures défensives

Les mesures défensives consistent à protéger les sujets indemnes. On peut empêcher l'apparition du parasite sur l'hôte ou empêcher le développement du parasite sur l'hôte.

- Protection mécanique : via l'utilisation de moustiquaires, de grillages. Dans le cas de l'infestation par *T. callipaeda*, la bonne hygiène du contour des yeux (nettoyage des sécrétions oculaires) peut constituer une mesure défensive.

- Protection chimique : via l'utilisation d'insectifuges, d'insecticides à action foudroyante.

- Protection vaccinale : il s'agit d'une lutte contre les agents pathogènes transmis par le vecteur, et non une lutte contre le vecteur lui-même.

II- CHIMIOPRÉVENTION

Dans cette partie, nous allons prendre l'exemple de la chimioprévention vis-à-vis de la dirofilariose cardio-pulmonaire du chien. En effet, cette maladie est bien connue et la prophylaxie à mettre en place est bien décrite. La dirofilariose est une nématodose due à la filaire *Dirofilaria immitis*, localisée, à l'état adulte, dans le cœur droit et dans les artères pulmonaires. Ce parasite est transmis par un vecteur Culicidé (des genres *Anopheles*, *Culex* et *Aedes*).

En France, la chimioprévention de la dirofilariose passe par la lutte contre les larves de *D. immitis* avec l'une des lactones macrocycliques suivantes :

- Sélamectine (Stronghold®) en *spot-on* à 6 mg/kg/mois,
- Milbémycine oxime (Interceptor®, Milbémax®, Triféxis®) par voie orale à 0,5-1 mg/kg/mois,
- Moxidectine (Advocate®) en *spot-on* à 2,5 mg/kg/mois,
- Moxidectine (Guardian®) par voie sous-cutanée à 175 µg/kg, rémanent six mois.

Lorsque le chien se trouve dans une zone d'enzootie de dirofilariose, la chimioprévention a lieu tout au long de l'année : administration mensuelle d'une lactone macrocyclique. Ces administrations permettent de tuer les larves de *D. immitis* qui se sont développées dans les 30 jours précédents. Dans ces aires géographiques d'enzootie, il est conseillé de tester tous les chiens au début de chaque période à risque, dans le but d'identifier les chiens infestés. Avant de mettre en place la chimioprévention, des tests de

détection des antigènes de filaires adultes et d'observation des microfilaires de *D. immitis* dans le sang doivent être effectués.

En cas de séjour de plus d'un mois du chien en zone d'enzootie, le traitement préventif devra commencer dans le mois qui suit l'arrivée de l'animal dans la région et devra être poursuivi mensuellement.

Pour les chiens séjournant moins d'un mois en zone d'enzootie, un seul traitement à son retour à la maison est suffisant.

III- VACCINATION

À ce jour, il existe un petit nombre de vaccins vis-à-vis des agents pathogènes vectorisés.

Le vaccin contre la babésiose (Pirodog®) est disponible et n'empêche parfois pas l'infection par *Babesia canis* (il permet cependant de limiter la sévérité des symptômes de babésiose). La protection immunitaire conférée peut varier selon les sous-espèces et la structure antigénique des souches.

La leishmaniose canine est une maladie due au protozoaire *Leishmania infantum* transmis par des phlébotomes dans le sud de l'Europe. Le vaccin (CaniLeish®) contre cette maladie existe et des études de terrain sont en cours pour évaluer son efficacité.

La vaccination demeure complexe à mettre en place dans la lutte contre les helminthes, et n'empêche pas toujours l'infection. La lutte contre les tiques et contre les phlébotomes est primordiale et doit être mise en place en parallèle de la vaccination.

TROISIÈME PARTIE :
ESSAI CLINIQUE EN DORDOGNE

Évaluation comparative de l'efficacité du collier Seresto® et d'Advocate® dans le cadre de la prévention de l'infestation par *Thelazia callipaeda* chez le chien

I- INTRODUCTION

La thélaziose canine est une parasitose émergente en Europe. Elle est déjà décrite en Italie (dans les régions de Basilicata et du Piémont), en Dordogne (Dorchies *et al.*, 2007 ; Ruytoor *et al.*, 2010), dans le sud de la Suisse (Malacrida *et al.*, 2008), et plus récemment en Espagne (Miró *et al.*, 2011) et au Portugal (Vieira *et al.*, 2012 ; Rodrigues *et al.*, 2012 ; Pimenta *et al.*, 2013 ; Soares *et al.*, 2013).

Cette parasitose étant une zoonose, il se peut que la prévalence humaine augmente en Europe dans les prochaines années. Par conséquent, la prévention de la thélaziose, au sein du réservoir que représente l'espèce canine, est souhaitable. À ce jour, il n'existe pas de recommandations précises pour prévenir l'infestation des chiens par le nématode *Thelazia callipaeda*.

En 2012, avec la participation du laboratoire Bayer HealthCare Animal Health, un essai clinique a été mis en place. Les Docteurs vétérinaires Pennant et Siméon ont accepté d'y participer.

II- OBJECTIFS

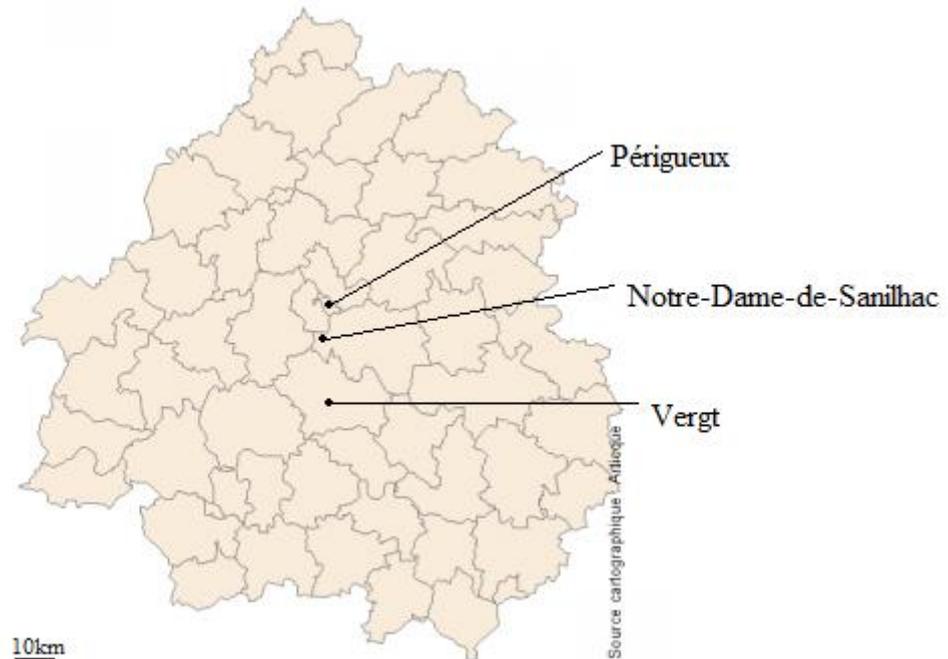
Le but de l'étude a été d'évaluer l'efficacité de la spécialité Advocate® Chien *spot-on* (contenant imidaclopride et moxidectine) dans la prévention de l'infestation des chiens par le nématode *Thelazia callipaeda* et du collier Seresto® Chien (contenant imidaclopride et fluméthrine) dans la prévention de l'infestation des chiens par la drosophile *Phortica variegata*.

III- MATÉRIEL ET MÉTHODES

1- Critères de sélection des chiens

Deux vétérinaires exerçant dans le département de la Dordogne, Olivier Pennant (Vergt) et Noémie Siméon (Notre Dame de Sanilhac) ont participé à l'essai clinique.

Figure 16 : localisation des communes de Notre-Dame-de-Sanilhac (canton Saint Pierre de Chignac) et Vergt (canton de Vergt) dans le département de la Dordogne (source : fond de carte www.mapanddata.com)



Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- le chien a présenté par le passé une thélaziose ;
- le propriétaire a adhéré aux exigences du protocole (dates de visite, examens de l'animal, prélèvement et identification du parasite) ;
- le propriétaire a donné son consentement écrit pour que son chien participe à l'étude ;
- le propriétaire était en mesure de spécifier la nature de tout traitement anthelminthique utilisé pour traiter son chien dans les 30 derniers jours.

Les critères de non inclusion étaient les suivants :

- le chien avait moins de sept semaines ;
- le chien était encore allaité ;
- le chien pesait moins de 1 kg ;
- le chien avait déjà présenté des réactions à Advocate® ou à un de ses composants ou à d'autres *spot-on* ;
- le chien avait déjà présenté des réactions à Seresto® ou à un de ses composants ou à d'autres colliers antiparasitaires ;
- le chien avait été traité avec une lactone macrocyclique dans les deux derniers mois ;
- le chien présentait une affection grave concomitante ou préexistante susceptible d'interférer avec l'évaluation de la réponse au traitement ;
- le chien avait besoin d'être baigné ou shampooiné durant les 24 heures après le traitement ou plus d'une fois par semaine dans le mois suivant le traitement.

2- Protocole

L'étude s'est déroulée sur neuf mois (de fin mai 2012 à fin février 2013).

A la première visite (V1), chaque animal a reçu un traitement Advocate®, pour traiter une éventuelle infestation par *T. callipaeda*. Trois groupes de chiens ont été créés par tirage au sort.

- Les chiens faisant partie du groupe A ont été traités avec la spécialité Advocate®. Ils ont été présentés à la consultation chez le vétérinaire toutes les quatre semaines durant neuf mois, pour y être examinés et traités (ce qui a représenté neuf visites ; V1 était la première des neuf visites). Le suivi clinique complet a comporté 10 visites (V10 : clôture d'étude février 2013 ou le jour où une thélaziose oculaire a été diagnostiquée) ;
- Les chiens faisant partie du groupe B, ont été traités avec le collier Seresto®. Ils ont été présentés à la consultation chez le vétérinaire trois fois durant les neuf mois. V1 : pour y être examinés et traités une seule fois avec Advocate®, V2 (V1 + 21 jours ± 2 jours) pour y être traités avec le collier Seresto® (actif huit mois) et V3 : clôture d'étude février 2013 ou le jour où une thélaziose oculaire a été diagnostiquée. Le suivi clinique complet a comporté trois visites ;
- Les chiens faisant partie du groupe C, ont été des témoins non traités. Ils ont été présentés à la consultation chez le vétérinaire deux fois durant les neuf mois de l'étude. V1 : pour y être examinés et traités une seule fois avec Advocate®, V2 : clôture d'étude février 2013 ou le jour où une thélaziose oculaire a été diagnostiquée.

Pour tout animal, en cas de présence de signes cliniques oculaires, les propriétaires sont venus en consultation chez le vétérinaire et un examen ophtalmologique approfondi a été réalisé. L'examen a consisté en l'observation des annexes oculaires (sécrétions, paupières, conjonctives), en l'observation de la cornée puis en la recherche de nématodes sous les paupières mobiles et sous la membrane nictitante (après instillation d'un collyre anesthésique et à l'aide d'une pince atraumatique).

3- Recueil des données

Les vétérinaires ont rempli dès la visite V1 un cahier clinique par chien participant à l'étude (**annexe 1**). Ils l'ont complété lors des visites suivantes. Les données recueillies étaient :

- des informations générales : race, longueur du poil, âge, sexe, stérilisation ou non, poids du chien,
- des informations épidémiologiques : lieu de vie, type de foyer, fréquence des sorties, contact ou non avec d'autres carnivores domestiques,
- des informations cliniques : examen clinique général, examen parasitologique, examen ophtalmologique (blépharospasme, prurit, sécrétions oculaires séreuses ou mucopurulentes, hyperhémie palpébrale, œdème palpébral, ulcération palpébrale, hyperhémie conjonctivale, chémosis, œdème cornéen, néovascularisation cornéenne, pigmentation cornéenne),

- des informations thérapeutiques : traitement à l'inclusion lors de la visite V1 avec Advocate® (dose, date du traitement, numéro de lot, date de péremption), traitement en cours d'étude (Seresto® ou Advocate®), traitement avec Advocate® en cas de thélaziose avérée,
- en cas de thélaziose : date du prélèvement, nombre de nématodes prélevés dans chaque œil.

4- Traitement et prélèvement

Lors de chaque visite, les vétérinaires ont procédé à un examen ophtalmologique approfondi sur le chien. Sur des chiens symptomatiques et coopératifs, les vétérinaires ont soulevé les paupières mobiles et la membrane nictitante à l'aide d'une pince atraumatique pour rechercher des nématodes. Le diagnostic de thélaziose a été posé dès lors qu'au moins un nématode a été observé directement dans l'œil. Aucun cas de chien non coopératif ne nous a été rapporté durant l'étude, le risque d'introduction de chiens faux négatifs est donc minime (cf discussion des biais dans la partie « Discussion »).

En cas de thélaziose avérée, les nématodes ont été prélevés à l'aide d'une pince et conservés dans l'éthanol à 70°. Les chiens infestés ont alors été traités par application de la spécialité Advocate® et cette consultation correspondait à la visite de clôture de l'étude pour ces derniers.

5- Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Epi Info version 3.5.1. Nous avons dans un premier temps testé puis quantifié l'association entre le traitement par le collier Seresto® et la présence de parasites d'une part, et testé puis quantifié l'association entre le traitement par Advocate® et la présence de parasites d'autre part. Les associations ont été testées à l'aide du test du Chi-2. Dans un deuxième temps, nous avons cherché à tester puis quantifier des associations entre les expositions de l'étude et la présence de parasites, de façon à mettre en évidence d'éventuels facteurs de risque de la maladie (les associations ont été testées par le test du Chi-2, ou le test de Fisher si les effectifs attendus étaient inférieurs à 5).

D'après les critères de l'**annexe 2** appliqués aux expositions de l'étude, seule l'exposition « longueur du poil » du chien (poil court *versus* poil moyen ou long) était un facteur de confusion potentiel dans l'estimation de l'association causale entre le traitement par le collier Seresto® et la présence de parasites ; d'après ces trois critères, seule l'exposition « proximité du lieu de vie du chien avec des cultures de fraises » était un facteur de confusion potentiel dans l'estimation de l'association causale entre la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites. Ces deux facteurs de confusion potentiels ont été pris en compte par stratification dans les analyses statistiques.

IV- RÉSULTATS

1- Description des signes cliniques

Dans l'étude, 43 chiens ont été atteints au moins une fois de thélaziose. Les chiens atteints une fois de thélaziose (au nombre de 36) l'ont été à V1 ou bien au cours ou à la clôture de l'étude. Les chiens atteints deux fois de thélaziose (au nombre de sept) l'ont été à V1 et au cours ou à la clôture de l'étude. Au total, 50 cas de thélaziose ont donc été décrits dès la visite V1 et au cours de l'étude. Le **tableau 2** rassemble le nombre de fois qu'un signe clinique oculaire a été observé par les vétérinaires chez des chiens atteints de thélaziose. Ces signes cliniques pouvaient toucher, selon les cas, un œil ou bien les deux. Certains signes proposés dans le questionnaire d'examen ophtalmologique n'ont jamais été observés sur les 43 cas de thélaziose. Il s'agissait de l'œdème palpébral, de l'ulcération palpébrale, de l'œdème cornéen, de la néovascularisation de la cornée et de la pigmentation cornéenne.

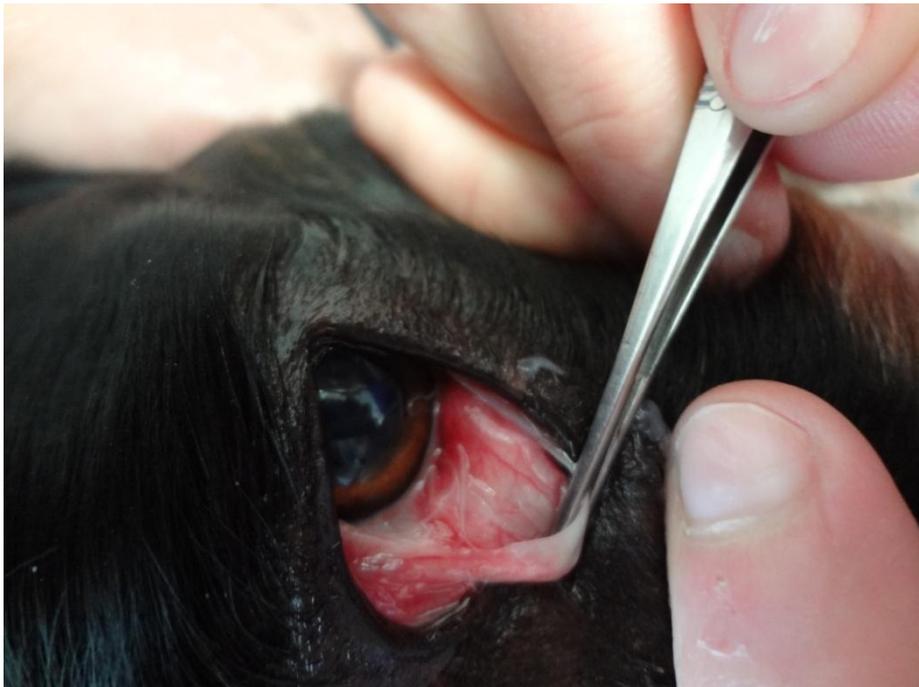
Tableau 2 : signes cliniques observés chez 43 chiens atteints une fois (à V1 ou au cours de l'étude) ou deux fois de thélaziose (à V1 et au cours de l'étude)

Signes cliniques	Total des cas de thélaziose (n=50)
Aucun	12
Blépharospasme	1
Prurit	3
Sécrétions oculaires séreuses	19
Sécrétions oculaires mucopurulentes	9
Hyperhémie palpébrale	2
Hyperhémie conjonctivale	33
Chémosis	4

Le **tableau 2** montre que 66 % (33/50) des chiens atteints de thélaziose ont présenté une hyperhémie conjonctivale. Dans l'échantillon des chiens de l'étude, il s'agit de loin du signe clinique le plus fréquent (**figure 17**). Parmi les cas de thélaziose, 24 % (12/50) des chiens n'ont présenté aucun signe clinique : la maladie a été très certainement diagnostiquée grâce à l'étude et les chiens étaient sûrement infestés depuis peu de temps, les nématodes adultes n'ayant pas encore eu le temps d'occasionner des signes ophtalmologiques. Les chiens atteints de thélaziose ont présenté dans 38 % (19/50) des cas des sécrétions oculaires séreuses, dans 18 % (9/50) des cas des sécrétions oculaires mucopurulentes (**figure 17**), dans 8 % (4/50) des cas un chémosis, dans 6 % (3/50) des cas

du prurit, dans 4 % (2/50) des cas une hyperhémie palpébrale et dans 2 % (1/50) des cas un blépharospasme.

Figure 17 : hyperhémie conjonctivale et sécrétions oculaires mucopurulentes sur un chien de l'étude atteint de thélaziose. Après instillation d'un collyre anesthésique, la membrane nictitante est éversée à l'aide d'une pince atraumatique ; des nématodes sont visibles à la surface de l'œil et derrière la membrane nictitante (source : Dr vétérinaire Noémie Siméon)



Au cours de l'étude, des nématodes *T. callipaeda* ont été détectés chez 20 chiens. Ces cas ont été répartis de la façon suivante : aucun dans le groupe A, 12 dans le groupe B et huit dans le groupe C. Nous avons alors testé l'association brute entre le traitement reçu par le chien et la présence de parasites.

2- Association brute entre le traitement reçu par le chien et la présence de parasites

Dans l'association brute, le pourcentage de cas de thélaziose parmi les chiens du groupe A (chiens traités toutes les quatre semaines par Advocate®) a été comparé au pourcentage de cas de thélaziose parmi les chiens du groupe B (chiens traités avec le collier Seresto®) et au pourcentage de cas de thélaziose parmi les chiens du groupe C (chiens n'ayant reçu aucun des deux traitements précédents durant la période de l'étude).

Le **tableau 3** montre qu'aucun chien du groupe A (Advocate®) n'a développé une thélaziose durant ou au terme de la période d'étude alors que 33,3 % (12/36) des chiens du groupe B (Seresto®) et 29,6 % (8/27) des chiens du groupe Contrôle ont été parasités. Ces trois pourcentages sont significativement différents ($p=0,001$). Par conséquent, dans

l'échantillon, il a existé une association significative entre la présence de parasites et l'appartenance au groupe. On observe par ailleurs qu'il y a eu des cas de thélaziose diagnostiqués chez les chiens durant ou à la clôture de l'étude parmi les chiens du groupe Seresto® et Contrôle, contrairement aux chiens du groupe Advocate®.

Tableau 3 : répartition des chiens atteints de thélaziose durant ou à la clôture de l'étude (Thélaziose +) et les chiens non atteints (Thélaziose -) selon leur groupe

		Infestation parasitaire	
		Thélaziose - (n=76)	Thélaziose + (n=20)
Groupes	A : Advocate®	33	0
	B : Seresto®	24	12
	C : Contrôle	19	8

3- Association causale entre le groupe dans lequel le chien se trouve et la présence de parasites

a- Association causale entre le traitement Seresto® et la présence de parasites

Le **tableau 4** présente la répartition des chiens infestés de parasites durant ou à la clôture de l'étude et des chiens non infestés selon leur groupe d'appartenance (groupe B Seresto® ou groupe C Contrôle).

Tableau 4 : répartition des chiens atteints de thélaziose durant ou à la clôture de l'étude (Thélaziose +) et les chiens non atteints (Thélaziose -)

		Infestation parasitaire		Total
		Thélaziose -	Thélaziose +	
Groupes	B : Seresto®	24	12	36
	C : Contrôle	19	8	27
	Total	43	20	63

Un $OR_{brut} [IC_{95\%}] = 1,2 [0,4 ; 3,5]$ avec $p = 0,75 > 0,05$ (test du Chi-2) a été obtenu.

L'OR brut comparant les chiens du groupe Seresto® aux chiens du groupe Contrôle valait 1,2 et n'était pas significativement différent de un. On peut donc dire que, dans l'échantillon, il n'y a pas eu d'association significative entre le groupe dans lequel le chien se trouve (groupe Seresto® ou Contrôle) et la présence de parasites.

Nous avons vu que l'exposition « longueur du poil » du chien était un facteur de confusion potentiel dans cette étude. Il était donc nécessaire de le prendre en compte dans le calcul de l'estimation de l'OR causal quantifiant l'association causale entre le traitement avec le collier Seresto® et la présence de thélaziose. En effet, la valeur de l'OR brut peut être très éloignée de la valeur de l'OR causal s'il existe des biais de confusion. Nous avons donc ajusté sur ce facteur de confusion potentiel.

Parmi les chiens à poil moyen ou long (variable *Poil_court*=0 dans Epi Info), l'OR [IC₉₅ %] quantifiant l'association entre les chiens du groupe Seresto® et Contrôle et la présence de parasites était de 1,2 [0,3 ; 4,5] (p=0,74).

Parmi les chiens à poil court (variable *Poil_court*=1), l'OR [IC₉₅ %] quantifiant l'association entre les chiens du groupe Seresto® et Contrôle et la présence de parasites était de 1,5 [0,1 ; 17,7] (p=0,74).

Les valeurs des OR stratifiés ($OR_{\text{poils moyens ou longs}}=1,2$ et $OR_{\text{poils courts}}=1,5$) ont été considérées comme cliniquement voisines. En effet, la largeur des intervalles de confiance étaient telles qu'ils se recoupaient de façon assez importante. De plus, le test de l'interaction, c'est-à-dire celui testant si 1,2 était significativement différent de 1,5 donnait un p=0,89, bien supérieur à 0,05. Par conséquent, nous n'avons pas pensé avec forte conviction que ces OR étaient réellement, dans la population, différents. Donc, le calcul de l'OR ajusté sur la variable « longueur du poil » (poil court ou non) était possible.

La valeur de l'OR [IC₉₅ %] ajusté sur la longueur du poil était de 1,3 [0,4 ; 4,0] et le p associé valait 0,66. Cet OR ajusté n'était donc pas significativement différent de un car l'intervalle de confiance contient un et $p > 0,05$.

L'interprétation de cet OR est la suivante : indépendamment de la longueur du poil, les chiens du groupe Seresto® n'ont pas présenté plus ou moins fréquemment de thélaziose que les chiens du groupe Contrôle.

b- Association causale entre le traitement Advocate® et la présence de parasites

Le **tableau 5** présente la répartition des chiens infestés par des parasites durant ou à la clôture de l'étude et des chiens non infestés selon leur groupe d'appartenance (groupe A Advocate® ou groupe C Contrôle).

Tableau 5 : table comparative entre les chiens atteints de thélaziose durant ou à la clôture de l'étude (Thélaziose +) et les chiens non atteints (Thélaziose -) selon qu'ils soient dans le groupe A Advocate ou le groupe C Contrôle

		Infestation parasitaire		Total
		Thélaziose -	Thélaziose +	
Groupes	A : Advocate	33	0	33
	C : Contrôle	19	8	27
	Total	52	8	60

Dans la mesure où aucun chien traité avec l'Advocate® n'a déclaré de thélaziose au cours de l'étude ou à sa clôture, les OR n'étaient pas calculables et l'ajustement sur les facteurs de confusion potentiels n'a pas pu être réalisé.

Nous avons donc comparé le pourcentage de cas de thélaziose parmi les chiens du groupe Advocate® au pourcentage de cas de thélaziose parmi les chiens du groupe Contrôle. D'après le **tableau 5**, nous observons que 29,6 % (8/27) des chiens du groupe Contrôle ont développé une thélaziose contre 0 % (0/33) des chiens du groupe Advocate (p=0,0009). Ces deux pourcentages étaient donc significativement différents.

Dans l'échantillon, il y a donc eu plus fréquemment des cas de thélaziose parmi les chiens du groupe Contrôle que parmi les chiens du groupe Advocate.

Cette association brute était significative. Soit cette association brute provenait d'une association causale (le traitement Advocate® serait alors un facteur protecteur de la thélaziose), soit elle était due à la présence d'un ou de plusieurs biais de confusion. Pour vérifier ce deuxième point, nous avons vérifié que les deux groupes Advocate et Contrôle n'étaient pas déséquilibrés sur des expositions associées à la thélaziose (ce déséquilibre aurait entraîné potentiellement un biais de confusion, mais que nous n'avons pas pu malheureusement prendre en compte en raison d'un des effectifs égal à 0 – **tableau 5**). Nous avons pour cela identifié les cinq expositions qui étaient les plus associées à l'infestation parasitaire (c'est-à-dire qui avaient le p donné par le test du Chi-2 le plus bas dans l'association avec la présence de parasites). Il s'agissait de :

- la longueur du poil du chien : poil court *versus* poil moyen ou long,
- le lieu de vie du chien : ferme, maison ou appartement,
- l'âge du chien,
- le sexe du chien,
- la proximité du lieu de vie du chien avec des cultures de fraises.

Exemple avec l'exposition « longueur du poil »

Le **tableau 6** compare la longueur du poil des chiens (poil court *versus* poil moyen ou long) selon qu'ils appartiennent au groupe A Advocate® ou au groupe C Contrôle.

Tableau 6 : table comparative entre les chiens du groupe A Advocate® ou du groupe C Contrôle et les chiens à poil court ou les chiens à poil moyen ou long

		Groupe	
		A : Advocate®	C : Contrôle
Longueur du poil	Court	11	7
	Moyen ou long	22	20

Il a fallu regarder parmi les chiffres des quatre cases du **tableau 6** s'il existait un déséquilibre de répartition des chiens et si le p donné par le test du Chi-2 était inférieur à 0,20. Le pourcentage de chiens à poil court parmi les chiens traités par Advocate® était de

33 % (11/33), contre 26 % (7/27) parmi les chiens contrôles ($p = 0,53 > 0,20$). Donc il n'existait pas de déséquilibre de répartition des chiens parmi les groupes Advocate et Contrôle et dans cette exposition (longueur du poil).

Autres expositions parmi celles les plus associées à la présence de thélaziose

Le même raisonnement a conduit aux degrés de signification suivants :

- lieu de vie dans une ferme : $p=0,92 > 0,20$,
- âge : $p=0,79 > 0,20$,
- sexe : $p=0,33 > 0,20$,
- lieu de vie à proximité de cultures de fraises : $p=0,71 > 0,20$.

La répartition du nombre des chiens traités par Advocate® ou non traités dans ces cinq expositions était correcte, dans la mesure où il n'existait pas de déséquilibre dû au hasard (à la randomisation lors de la formation des trois groupes) qui aurait pu entraîner un biais de confusion, et donc une association entre le traitement par Advocate® et la présence de parasites biaisée par un biais de confusion.

4- Recherche de facteur(s) de risque d'infestation parasitaire

Nous avons divisé en deux groupes les expositions que nous voulions tester en tant que potentiels facteurs de risque de la thélaziose :

- celles où, cliniquement et/ou biologiquement, il y avait une raison de penser qu'elles puissent être des facteurs de risque de thélaziose. Il s'agissait de la proximité du lieu de vie du chien avec des cultures de fraises et le contact du chien avec d'autres carnivores domestiques ;
- les autres expositions de l'étude.

Dans cette partie, nous n'avons pris en compte que les chiens issus des groupes Seresto® et Contrôle que nous avons regroupés, dans la mesure où les chiens traités avec le collier Seresto® semblaient être autant à risque de développer une thélaziose que les chiens issus du groupe Contrôle.

a- Association causale entre la proximité du lieu de vie du chien avec des cultures de fraises

Un $OR_{brut} [IC_{95\%}] = 0,3 [0,1 ; 0,8]$ avec $p=0,01$ a été obtenu.

L'OR brut comparant les chiens vivant à proximité de cultures de fraises aux chiens ne vivant pas à proximité de cultures de fraises valait 0,3 et était significativement différent de un (car le p donné par le test du Chi-2 était $< 0,05$ et car son intervalle de confiance à 95 % ne contenait pas un). Dans l'échantillon, la thélaziose a été moins fréquente chez les chiens vivant à proximité de cultures de fraises que chez les chiens ne vivant pas à proximité de cultures de fraises.

De la même manière que dans la partie « Méthode », la recherche de facteurs de confusion potentiels dans l'association entre le lieu de vie à proximité de cultures de fraises et la thélaziose a été réalisée. D'après les critères de l'**annexe 2** appliqués à toutes les expositions autres que la proximité du lieu de vie avec les cultures de fraises, aucune des expositions de l'étude n'a rempli tous ces critères : elles n'étaient donc pas des facteurs de confusion potentiels.

b- Association causale entre le contact du chien avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites

Un $OR_{brut} [IC_{95\%}] = 0,7 [0,2 ; 2,2]$ avec $p=0,56$ a été obtenu.

L'OR brut comparant les chiens vivant en présence d'autres carnivores domestiques aux chiens sans contact avec d'autres carnivores domestiques valait 0,7 et n'était pas significativement différent de un (car le p donné par le test du Chi-2 était $> 0,05$ et car son intervalle de confiance à 95 % contenait un). On peut donc dire que, dans l'échantillon, il n'y a pas eu d'association significative entre la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites.

D'après la partie « Méthode », nous avons vu que l'exposition « proximité du foyer du chien avec des cultures de fraises » était un facteur de confusion potentiel dans l'étude de l'association causale entre la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites. Il était donc nécessaire de le prendre en compte dans le calcul de l'estimation de l'OR causal quantifiant cette association. En effet, la valeur de l'OR brut peut être très éloignée de la valeur de l'OR causal s'il existe des biais de confusion. Nous avons donc stratifié puis ajusté sur ce facteur de confusion potentiel.

Parmi les chiens ne vivant pas à proximité de cultures de fraises (variable *Lieu_fraises*=0 dans Epiinfo), l'OR $[IC_{95\%}]$ quantifiant l'association entre la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites était de 0,8 $[0,2 ; 3,0]$ ($p=0,70$).

Parmi les chiens vivant à proximité de cultures de fraises (variable *Lieu_fraises*=1), l'OR $[IC_{95\%}]$ quantifiant l'association entre la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites était de 1,2 $[0,1 ; 11,7]$ ($p=0,87$).

La largeur des intervalles de confiance étaient telles qu'ils se recoupaient de façon assez importante. De plus, le test de l'interaction, c'est-à-dire celui testant les deux OR stratifiés, si 0,8 était significativement différent de 1,2 a donné un $p=0,73$, bien supérieur à 0,05. Par conséquent, nous n'avons pas pu penser avec forte conviction que ces OR sont réellement, dans la population, différents. Donc les OR stratifiés ont pu être considérés comme voisins, et le calcul de l'OR ajusté sur la variable « proximité du lieu de vie avec des cultures de fraises » a été possible.

La valeur de l'OR $[IC_{95\%}]$ ajusté sur la longueur du poil était de 0,9 $[0,3 ; 2,7]$ et le p associé valait 0,82. Cet OR ajusté n'était donc pas significativement différent de un car l'intervalle de confiance contenait un et $p > 0,05$.

L'interprétation de cet OR est la suivante : indépendamment de la proximité du lieu de vie avec des cultures de fraises, les chiens présentant un contact régulier avec d'autres

carnivores domestiques n'ont pas présenté plus ou moins fréquemment de thélaziose que les chiens sans contact avec d'autres carnivores domestiques.

c- Associations brutes entre les autres expositions et la présence de parasites

Les autres expositions de l'étude, qui cliniquement et/ou biologiquement ne font pas penser qu'elles puissent être un facteur de risque de la thélaziose, étaient au nombre de 15. Dans la mesure où l'on a testé l'association entre 15 expositions et l'infestation parasitaire sans avoir *a priori* d'hypothèse quant à la présence réelle de ces associations, nous étions dans le cadre de tests multiples. Dans ce cadre là, il a été nécessaire de modifier le seuil de signification selon le nombre d'expositions testées, à l'aide de la correction de Bonferroni (seuil *alpha* divisé par le nombre de tests statistiques). Le nouveau seuil d'erreur de première espèce pour chaque test statistique individuel a été estimé à : $\alpha=0,05/n=0,0033$.

D'après le **tableau 7**, il n'a existé aucune association significative en brut entre chaque exposition et la présence de parasites en dessous du nouveau seuil $\alpha=0,0033$.

Tableau 7 : table présentant les p donnés par le test du Chi-2 quantifiant l'association brute entre chaque exposition et la présence de parasites

Expositions	p
Race du chien	0,92
Poil court	0,16
Poil long	0,81
Âge	0,13
Sexe	0,03
Stérilisation	0,32
Lieu de vie rural	0,29
Lieu de vie urbain	0,37
Foyer : ferme	0,15
Foyer : maison	0,19
Foyer : appartement	0,60
Promenades régulières	0,56
Accès libre à l'extérieur	0,97
En permanence à l'extérieur	0,44
Poids	0,54

V- DISCUSSION

Les biais de sélection sont difficiles à définir et à discuter. La non représentativité d'un échantillon n'entraîne *a priori* pas de biais de sélection pouvant biaiser les associations entre la thélaziose et les expositions, étudiées dans la partie « Résultats ». De plus, l'échantillon des chiens de l'étude a été sélectionné par tirage au sort ; nous pouvons donc penser qu'il est représentatif de la population des chiens exposés à l'infestation par *T. callipaeda* en général.

Dans cette partie, nous ne discuterons donc pas de la présence de biais de sélection et nous ferons l'hypothèse qu'il n'en existe pas dans cette étude.

1- Biais dans l'association causale entre le traitement Seresto® et la présence de parasites

D'après la partie « Résultats », nous avons vu qu'il n'y avait pas, en brut, d'association significative entre le traitement reçu par le chien (Seresto®) et la présence de parasites. Il est possible que les vétérinaires aient classé certains chiens comme sains alors qu'ils étaient atteints de thélaziose :

- si le chien est asymptomatique, les vétérinaires ont possiblement réalisé un examen ophtalmologique moins approfondi que sur un chien symptomatique ;
- si les adultes de *T. callipaeda* sont difficilement visibles sous les conjonctives de l'œil ;
- si le chien n'est pas suffisamment coopératif pour la réalisation d'un examen ophtalmologique approfondi.

Cette erreur de classement, qui conduit globalement à une sous-estimation de la thélaziose, est indépendante du fait que le chien soit dans le groupe A, B ou C. Cette erreur globale de la maladie conduit à du biais de classement non différentiel.

La présence de biais de classement non différentiel a pour impact de réduire la force de l'association entre l'exposition (ici le groupe Seresto®) et la thélaziose. L'OR brut [IC₉₅ %] estimé quantifiant l'association entre les chiens du groupe Seresto® et la thélaziose vaut 1,2 [0,4 ; 3,5]. Donc, si l'OR brut n'avait pas été biaisé par du biais de classement non différentiel, il aurait été supérieur à celui estimé, c'est-à-dire supérieur à 1,2.

Toutefois, nous pouvons penser que la plupart des chiens de l'étude étaient suffisamment coopératifs pour une bonne réalisation de l'examen ophtalmologique (aucun cas d'impossibilité de réalisation d'examen approfondi n'a été rapporté) et que les Docteurs vétérinaire Pennant et Siméon connaissent bien cette maladie, et la diagnostiquent même lorsque les adultes *T. callipaeda* se logent sous les conjonctives. Ce biais de classement non différentiel ne serait alors pas important dans cette étude sur la quantification de l'association entre le traitement Seresto® et la présence de parasites. Par conséquent, le biais de classement différentiel, s'il existe, peut être considéré comme faible, et donc l'OR brut non biaisé n'aurait pas été bien supérieur à 1,2.

L'OR quantifiant l'association entre le traitement par le collier Seresto® et la présence de nématodes peut aussi être biaisé et éloigné de l'OR causal par la présence de biais de

confusion. Dans la partie « Résultats », nous avons vu que la variable « longueur du poil » était un facteur de confusion dans cette association et l'OR a été ajusté sur cette variable : comme vu précédemment, l'association entre le traitement par le collier Seresto® et la présence de parasites est toujours non significative après ajustement sur ce facteur de confusion. De plus, si l'OR ajusté [IC₉₅%] (estimé à 1,3 [0,4 ; 4,0]) n'avait pas été biaisé par du biais de classement non différentiel décrit précédemment, il aurait été supérieur à 1,3.

Sous l'hypothèse qu'il n'existe pas d'autres facteurs de confusion, et sous réserve que le biais de classement non différentiel décrit précédemment n'ait pas ou très peu eu lieu en pratique chez les vétérinaires, alors nous pouvons faire de l'inférence causale en disant qu'il y a des chances pour que dans la population des chiens, les chiens traités avec le collier Seresto® soient autant à risque de développer une thélaziose que les chiens non traités.

Il serait intéressant, dans une prochaine étude, de réaliser systématiquement le même examen ophtalmologique (sur chiens anesthésiés, de façon à ce que les chiens les moins coopératifs subissent le même examen).

Nous pouvons alors nous poser la question de l'échec d'efficacité de ce collier dans la prévention de l'infestation des chiens par la drosophile *Phortica variegata*. Ce collier a d'ores et déjà des activités répulsive et insecticide connues vis-à-vis des puces et des tiques. Depuis le mois de mai 2014, les caractéristiques de ce produit incluent l'efficacité répulsive vis-à-vis de certains Diptères (notamment vis-à-vis des Phlébotomes, vecteurs de *Leishmania infantum*, agent responsable de la leishmaniose). En effet, Otranto *et al.* (2013b) ont montré l'efficacité de ce collier dans la répulsion de vecteurs transmettant l'agent responsable de leishmaniose chez le chien et chez l'Homme. Le collier Seresto® a montré une efficacité de 100 % dans la prévention de l'infestation par le protozoaire *Leishmania infantum* chez des jeunes chiens vivant en zone hyper-endémique de Leishmaniose en Italie et après leur première exposition à l'agent étiologique. La fluméthrine contenue dans le collier a réduit le nombre de morsures par les phlébotomes, réduisant ainsi le nombre d'infection par le protozoaire. Par conséquent, l'association de fluméthrine 4,5 % et d'imidaclopride 10 % (collier Seresto®) est efficace dans la répulsion de certains Diptères tels que ceux appartenant au genre des Phlébotomes. Ce collier ne semble en revanche pas être efficace dans la répulsion de Diptères appartenant au genre *Phortica*.

Dans la mesure où les chiens traités avec le collier Seresto® semblent être autant à risque de développer une thélaziose que les chiens issus du groupe Contrôle, la prévalence de cette affection dans le groupe Seresto® peut être considérée, au même titre que la prévalence dans le groupe Contrôle. Au total, 29,6 % des chiens du groupe Contrôle et 33,3 % des chiens du groupe Seresto® ont été parasités au cours ou à la clôture de l'étude. Par conséquent, **la prévalence moyenne de la thélaziose dans l'espèce canine est d'environ 30 % en Dordogne**. Cette valeur est plus importante que dans certaines autres régions enzootiques d'Europe : 23,1 % des chiens de la région du Piémont au nord-ouest de l'Italie (Rossi et Bertaglia, 1989 ; Otranto *et al.*, 2003a), 6,2 % des chiens du sud de la Suisse (Malacrida *et al.*, 2008), 0,7 % des chiens du nord du Portugal (Vieira *et al.*, 2012). Toutefois, la prévalence moyenne de 30 % en Dordogne reste inférieure à la prévalence de 41,8 % dans la région de Basilicata au sud de l'Italie (Rossi et Bertaglia, 1989 ; Otranto *et*

al., 2003a) et à la prévalence de 39,9 % dans la région de La Vera en Espagne (Miró *et al.*, 2011).

2- Biais dans l'association causale entre le traitement Advocate® et la présence de parasites

Nous avons vu qu'il existait une association significative entre le traitement avec Advocate® et la présence de parasites. En théorie, une erreur de classement sur la présence de thélaziose dépendante du groupe dans lequel le chien se trouve aurait été possible : si les deux vétérinaires ont classé un chien indemne de thélaziose à la clôture de l'étude en sachant que ce chien appartenait au groupe Advocate®. En effet, d'après Rossi *et al.* (2007) cités dans la thèse de Ruytoor (2010), la moxidectine (un des composants d'Advocate®), en injection unique au mois de juin à la posologie de 0,17 mg/kg et à libération prolongée (Guardian®), empêche l'infestation des chiens par le nématode jusqu'au mois de janvier. Par conséquent, les vétérinaires s'attendaient possiblement à ne voir aucun cas de thélaziose parmi les chiens du groupe Advocate®.

Toutefois, les vétérinaires ont l'habitude de diagnostiquer cette maladie et ont réalisé un examen ophtalmologique complet sur tous les chiens, quel que soit leur groupe d'appartenance.

Par conséquent, la présence de biais de classement différentiel (sous-estimation de la thélaziose parmi les chiens du groupe Advocate® et estimation correcte de la thélaziose parmi les chiens du groupe Contrôle) ne nous semble pas plausible.

Parmi les variables prises en compte dans l'étude, aucune n'a représenté un facteur de confusion dans la quantification de l'association entre le traitement Advocate® et la présence de parasites.

Sous réserve que le biais de classement différentiel décrit précédemment n'ait pas eu lieu en pratique chez les vétérinaires, et sous l'hypothèse que les deux groupes ne sont pas déséquilibrés sur d'autres expositions elles-mêmes associées à la présence de thélaziose, on peut penser que, dans la population des chiens, les chiens traités avec l'Advocate® soient moins à risque de développer une thélaziose que les chiens non traités. **Il semblerait que le traitement Advocate® soit ainsi un facteur de protection de la thélaziose chez le chien, et donc efficace pour prévenir de la thélaziose.**

En remarque, il serait tout de même intéressant de tester à nouveau cette association dans une prochaine étude, et que les vétérinaires ne connaissent pas le groupe dans lequel le chien se trouve. De cette façon, le biais de classement différentiel décrit précédemment serait exclu de manière certaine (étude en double aveugle).

3- Biais dans l'association causale entre la proximité du lieu de vie du chien avec des cultures de fraises et la présence de parasites

Nous avons vu que l'association entre la proximité du lieu de vie du chien avec des cultures de fraises et la présence de parasites était significative. Dans l'échantillon, la thélaziose a touché plus de chiens vivant à distance des cultures de fraises que de chiens

vivant à proximité. De façon assez surprenante, nos résultats contredisent les propos de Dorchies *et al.* (2007), Ruytoor *et al.* (2010) et Guillot *et al.* (2011) : la proximité du lieu de vie des chiens avec des productions fruitières (en particulier les fraises dans le sud-ouest de la France) semblerait être un facteur de risque de thélaziose, la période de production des fraises concordant avec la période d'activité maximale du vecteur.

Il se peut qu'un biais de confusion majeur n'ait pas été pris en compte dans le questionnaire de l'étude. De plus, la variable « proximité du lieu de vie avec des cultures de fraises » n'a pas été randomisée, et cela a pu être à l'origine d'un déséquilibre de répartition des chiens dans les groupes, créant alors du biais de confusion. En outre, cette variable relève d'un jugement subjectif de la part des vétérinaires : aucune notion de kilométrage vis-à-vis des cultures de fraises n'a été instaurée.

Par conséquent, nous ne pouvons pas dire que la thélaziose semble moins fréquente chez les chiens vivant à proximité de cultures de fraises que chez les chiens ne vivant pas à proximité, car un biais de confusion majeur (non intégré dans le questionnaire de l'étude) n'a sûrement pas été pris en compte.

Il serait intéressant que d'autres auteurs confirment ou infirment ces résultats avec une nouvelle étude, dans laquelle les chiens seraient randomisés, en plus du traitement reçu, sur la proximité de leur lieu de vie avec des cultures de fraises, et dans laquelle la proximité avec des cultures de fraises serait objectivée par un kilométrage précis.

4- Biais dans l'association causale entre le contact du chien avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites

Nous n'avons pas mis en évidence d'association significative entre la présence de contact du chien avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites. Il est possible que les vétérinaires aient classé certains chiens comme sains alors qu'ils étaient atteints de thélaziose :

- si le chien est asymptomatique, les vétérinaires ont possiblement réalisé un examen ophtalmologique moins approfondi que sur un chien symptomatique ;
- si les adultes de *T. callipaeda* sont difficilement visibles sous les conjonctives de l'œil ;
- si le chien n'est pas suffisamment coopératif pour la réalisation d'un examen ophtalmologique approfondi.

La présence de biais de classement non différentiel a pour impact de réduire la force de l'association entre l'exposition (ici la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques) et la présence de parasites. L'OR brut [IC₉₅ %] estimé quantifiant l'association entre la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques et la thélaziose vaut 0,7 [0,2 ; 2,2]. Donc, l'OR brut réel est (aux fluctuations d'échantillonnage près) inférieur à celui estimé, c'est-à-dire inférieur à 0,7.

Comme dit précédemment dans la partie correspondant à la discussion du biais de classement non différentiel dans l'association entre le traitement par le collier Seresto® et la présence de parasites, nous pouvons penser que la plupart des chiens de l'étude étaient suffisamment coopératifs pour une bonne réalisation de l'examen ophtalmologique (aucun cas d'impossibilité de réalisation d'examen approfondi n'a été rapporté) et que les

Docteurs vétérinaires Pennant et Siméon connaissent bien cette maladie, et la diagnostiquent même lorsque les adultes *T. callipaeda* se logent sous les conjonctives. Ce biais de classement non différentiel ne serait alors pas important dans cette étude sur la quantification de l'association entre la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites. Par conséquent, le biais de classement différentiel, s'il existe, peut être considéré comme faible, et donc l'OR brut non biaisé n'aurait pas été bien inférieur à 0,7.

L'OR quantifiant l'association entre la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites peut aussi être biaisé et éloigné de l'OR causal par la présence de biais de confusion. Dans la partie « Résultats », nous avons vu que la variable « proximité du lieu de vie avec des cultures de fraises » était un facteur de confusion dans cette association et l'OR a été ajusté sur cette variable : comme vu précédemment, l'association entre la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques et la présence de parasites est toujours non significative après ajustement sur ce facteur de confusion. De plus, si l'OR ajusté [IC₉₅ %] (estimé à 0,9 [0,3 ; 2,7]) n'avait pas été biaisé par du biais de classement non différentiel décrit précédemment, il aurait été inférieur à 0,9.

Si on fait l'hypothèse qu'il n'existe pas d'autres facteurs de confusion, et sous réserve que le biais de classement non différentiel décrit précédemment n'ait pas ou très peu eu lieu en pratique chez les vétérinaires, alors on peut faire de l'inférence causale en disant qu'il y a des chances pour que dans la population des chiens, les chiens présentant un contact régulier avec d'autres carnivores domestiques soient autant à risque de développer une thélaziose que les chiens sans contact avec d'autres carnivores domestiques.

Comme évoqué précédemment, il serait intéressant de refaire cette étude et de réaliser systématiquement le même examen ophtalmologique (sur chiens anesthésiés, de façon à ce que les chiens les moins coopératifs subissent le même examen).

5- Biais dans les associations entre les autres expositions et la présence de parasites

Nous avons réalisé pour ces expositions des tests multiples et le risque d'erreur de première espèce a été abaissé à $\alpha = 0,00333$. Le **tableau 7** indique que les expositions autres que la proximité du lieu de vie du chien avec les cultures de fraises et la présence de contact avec d'autres carnivores domestiques ne présentaient pas, en brut, d'association significative avec la présence de parasites au cours ou à la fin de l'étude.

Pour la très grande majorité des expositions testées, l'absence de significativité des associations n'est pas due à la correction du risque d'erreur α dans le cadre de tests multiples car les degrés de signification étaient quasiment tous supérieurs à 0,05. Le degré de signification de la variable « sexe » ($p=0,03$) pourrait en revanche laisser penser que le sexe du chien soit, en réalité, associé à la présence de parasites. Dans l'étude, la thélaziose a été plus fréquente parmi les mâles (30,4 %) que parmi les femelles (12 %). Dans une prochaine étude, il serait donc judicieux de faire l'hypothèse *a priori* que le sexe du chien puisse éventuellement être un facteur de risque de la thélaziose. Le seuil d'erreur de première espèce α serait alors fixé à 0,05, ce qui permettrait de confirmer ou infirmer cette hypothèse.

Par conséquent, sous l'hypothèse d'absence de biais de confusion et de classement, la race, la longueur du poil, l'âge, la stérilisation, le lieu de vie (rural *versus* urbain), le type de foyer (maison, appartement ou ferme), les promenades régulières, l'accès libre à l'extérieur, le fait d'être en permanence à l'extérieur ainsi que le poids ne constituent pas des facteurs de risque de thélaziose. Il est possible par contre que le sexe du chien représente un facteur de risque de thélaziose, si cette hypothèse est formulée *a priori* dans une prochaine étude.

CONCLUSION

La thélaziose est à l'heure actuelle une parasitose émergente en Europe dans l'espèce canine principalement mais aussi dans l'espèce féline et dans des espèces appartenant à la faune sauvage. Le caractère zoonotique de la thélaziose et la forte prévalence dans l'espèce canine en régions enzootiques indiquent l'importance de trouver des moyens de prophylaxie.

Lors de cet essai, nous avons montré que l'application mensuelle de moxidectine (Advocate®) en *spot-on* depuis le mois de juin jusqu'au mois de janvier semble être efficace dans la prévention de l'infestation par le nématode *Thelazia callipaeda*. En revanche, la mise en place d'un collier contenant de l'imidaclopride et de la fluméthrine (Seresto®) tout au long de la période à risque ne protégerait pas les chiens de l'infestation par le biais du vecteur, la drosophile *Phortica variegata*. Aucun facteur de risque de la thélaziose pris en compte dans le questionnaire de l'étude n'a été mis en évidence. Toutefois, il serait possible que le sexe du chien soit un facteur de risque de thélaziose. Une étude complémentaire s'avère alors nécessaire avec l'hypothèse formulée *a priori* que le sexe du chien puisse être un facteur de risque d'être infesté.

À ce jour, seule la drosophile *Phortica variegata* est connue comme vecteur de *Thelazia callipaeda* en Europe. Il n'est pas exclu cependant qu'il existe d'autres arthropodes vecteurs du parasite. D'autres études plus approfondies sont encore nécessaires pour mieux connaître l'identité et la biologie des vecteurs en jeu en Europe. Ainsi, la connaissance plus précise du développement et de la dynamique des espèces vectrices permettra l'élaboration de mesures de prophylaxie vis-à-vis du vecteur. Cette lutte entomologique pourra être couplée à la lutte parasitaire pour une meilleure prévention de la thélaziose.

BIBLIOGRAPHIE

AKHANDA AH, AKONJEE AR, HOSSAIN MM, RAHMAN MA, MISHU FA, HASAN MF *et al.* *Thelazia callipaeda* infestation in Bangladesh: a case report. *Mymensingh Med. J.* 2013, **22**, 581-584 (résumé).

ANDERSON RC. *Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission.* 2nd ed. CAB International, Guilford, 2000, 563 p.

BIANCARDI P, OTRANTO D. Treatment of dog thelaziosis caused by *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) using a topical formulation of imidacloprid 10% and moxidectin 2.5%. *Vet. Parasitol.* 2005, **129**, 89-93.

BOURDEAU P, PERON C, MARCHAND AM. A new vectorial disease in France: Canine Thelaziosis (*Thelazia callipaeda*): description of autochthonous foci: preliminary results. European Multicolloquium of Parasitology, Paris, août 2008 (présentation affichée, non publiée).

BUSSIÉRAS J, CHERMETTE R. *Parasitologie vétérinaire. Entomologie.* Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Service de Parasitologie, 1991, 163p.

BUSSIÉRAS J, CHERMETTE R. *Parasitologie vétérinaire. Helminthologie.* 2nd ed. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Service de Parasitologie, 1995, 299p.

CALERO-BERNAL R, OTRANTO D, PÉREZ-MARTÍN JE, SERRANO FJ, REINA D. First report of *Thelazia callipaeda* in Wildlife from Spain. *J. Wildl. Dis.* 2013, **49**, 458-460.

CALERO-BERNAL R, SÁNCHEZ-MURILLO JM, ALARCÓN-ELBAL PM, SÁNCHEZ-MORO J, LATROFA MS, DANTAS-TORRES F *et al.* Resolution of canine ocular thelaziosis in avermectin-sensitive Border Collies from Spain. *Vet. Parasitol.* 2014, **200**, 203-206.

CARON Y, PREMONT J, LOSSON B, GRAUWELS M. *Thelazia callipaeda* ocular infection in two dogs in Belgium. *J. Small Anim. Pract.* 2013, **54**, 205-208.

CAZALOT G, SIMÉON L. La thélaziose : une helminthose oculaire émergente. *Point Vet.* 2008, **284**, 23-26.

CHERMETTE R, GUILLOT J, BUSSIÉRAS J. Canine ocular thelaziosis in Europe. *Vet. Rec.* 2004, **154**, 148.

DORCHIES P, CHAUDIEU G, SIMÉON LA, CAZALOT G, CANTACCESSI C, OTRANTO D. First reports of autochthonous eyeworm infection by *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in dogs and cat from France. *Vet. Parasitol.* 2007, **149**, 294-297.

Drosophila suzukii. *Bull. Santé Végét. Aquitaine-Limousin. Fraise – Framboise*, 2012, n°1, 1 [PDF].

EL-DAKHLY K, ABO EL-HADID S, SHIMIZU H, EL-NAHASS S, MURAI A, SAKAI H *et al.* Occurrence of *Thelazia callipaeda* and *Toxocara cati* in an imported European lynx (*Lynx lynx*) in Japan. *J. Zoo Wildlife Med.* 2012, **43**, 632-635 (résumé).

FERROGLIO E, ROSSI L, TOMIO E, SCHENKER R, BIANCARDI P. Therapeutic and prophylactic efficacy of milbemycin oxime (interceptor) against *Thelazia callipaeda* in naturally exposed dogs. *Vet. Parasitol.* 2008, **154**, 351-353.

FUENTES I, MONTES I, SAUGAR JM, LATROFA S, GÁRATE T, OTRANTO D. Thelaziosis in Humans, a Zoonotic Infection, Spain, 2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2012, **18**, 2073-2075.

GUILLOT J, RUYTOOR P, PENNANT O, DÉAN É, DORCHIES P. La thélaziose oculaire du chien : un exemple de maladie parasitaire émergente en France. *Prat. Med. Chir. Anim.* 2011, **46**, 9-15.

HAMY T, BELAIS S. Thélaziose. Une parasitose émergente ? *Essentiel.* 2013, **278**, 17-19.

LIU GH, GASSER RB, OTRANTO D, XU MJ, SHEN JL, MOHANDAS N *et al.* Mitochondrial Genome of the Eyeworm, *Thelazia callipaeda* (Nematoda: Spirurida), as the First Representative from the Family Thelaziidae. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013, **7**, e2029.

MAGNIS J, NAUCKE TJ, MATHIS A, DEPLAZES P, SCHNYDER M. Local transmission of the eye worm *Thelazia callipaeda* in southern Germany. *Parasitol. Res.* 2010, **106**, 715-717 (résumé).

MALACRIDA F, HEGGLIN D, BACCIARINI L, OTRANTO D, NÄGELI F, NÄGELI C *et al.* Emergence of canine ocular thelaziosis caused by *Thelazia callipaeda* in southern Switzerland. *Vet. Parasitol.* 2008, **157**, 321-327.

MIRÓ G, MONTOYA A, HERNÁNDEZ L, DADO D, VÁZQUEZ MV, BENITO M *et al.* *Thelazia callipaeda*: infection in dogs: a new parasite for Spain. *Parasite Vector.* 2011, **4**, 1-6.

MOTTA B, SCHNYDER M, SOLARI BASANO F, NÄGELI F, NÄGELI C, SCHIESSL B *et al.* Therapeutic efficacy of milbemycin oxime/praziquantel oral formulation (Milbemax®) against *Thelazia callipaeda* in naturally infested dogs and cats. *Parasite Vector.* 2012, **5**, 1-6.

OTRANTO D, TRAVERSA D. Molecular characterization of the first internal transcribed spacer of ribosomal DNA of the most common species of eyeworms (Thelazioidea: *Thelazia*). *J. Parasitol.* 2004, **90**, 185-188 (résumé).

OTRANTO D, TRAVERSA D. *Thelazia* eyeworm: an original endo- and ecto-parasitic nematode. *Trends Parasitol.* 2005, **21**, n°1, 1-4.

OTRANTO D, DUTTO M. Human Thelaziosis, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, **14**, 647-649.

OTRANTO D, CANTACESSI C, TESTINI G, LIA RP. *Phortica variegata* as an intermediate host of *Thelazia callipaeda* under natural conditions: Evidence for pathogen transmission by a male arthropod vector. *Int. J. Parasitol.* 2006a, **36**, 1167-1173.

OTRANTO D, LIA RP, TRAVERSA D, GIANNETTO S. *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) of carnivores and humans: morphological study by light and scanning electron microscopy. *Parassit.* 2003b, **45**, 125-133 (résumé).

OTRANTO D, CANTACESSI C, MALLIA E, LIA RP. First report of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in wolves in Italy. *J. Wildlife Dis.* 2007a, **43**, 508-511 (résumé).

OTRANTO D, STEVENS JR, CANTACESSI C, GASSER RB. Parasite transmission by insects: a female affair? *Trends Parasitol.* 2007b, **24**, 116-120.

OTRANTO D, FERROGLIO E, LIA RP, TRAVERSA D, ROSSI L. Current status and epidemiological observation of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in dogs, cats and foxes in Italy: a « coincidence » or a parasitic disease of the Old Continent? *Vet. Parasitol.* 2003a, **116**, 315-325.

OTRANTO D, LIA RP, BUONO V, TRAVERSA D, GIANGASPERO A. Biology of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) eyeworms in naturally infected definitive hosts. *Parasitology.* 2004, **129**, 627-633 (résumé).

OTRANTO D, BRIANTI E, CANTACESSI C, LIA RP, MÁCA J. The zoophilic fruitfly *Phortica variegata*: morphology, ecology and biological niche. *Med. Vet. Entomol.* 2006b, **20**, 358-364 (résumé).

OTRANTO D, LIA RP, TESTINI G, MILILLO P, SHEN JL, WANG ZX. *Musca domestica* is not a vector of *Thelazia callipaeda* in experimental or natural conditions. *Med. Vet. Entomol.* 2005a, **19**, 135-139 (résumé).

OTRANTO D, TESTINI G, DE LUCA F, HU M, SHAMSI S, GASSER RB. Analysis of genetic variability within *Thelazia callipaeda* (Nematoda: Thelazioidea) from Europe and Asia by sequencing and mutation scanning of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 gene. *Mol. Cell. Probe.* 2005b, **19**, 306-313.

OTRANTO D, LIA RP, CANTACESSI C, TESTINI G, TROCCOLI A, SHEN JL *et al.* Nematode biology and larval development of *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in the drosophilid intermediate host in Europe and China. *Parasitology.* 2005c, **131**, 847-855.

OTRANTO D, DANTAS-TORRES F, MALLIA E, DIGERONIMO PM, BRIANTI E, TESTINI G *et al.* *Thelazia callipaeda* (Spirurida, Thelaziidae) in wild animals: Report of new host species and ecological implications. *Vet. Parasitol.* 2009, **166**, 262-267.

OTRANTO D, CANTACESSI C, LIA RP, GRUNWALD KADOW IC, PURAYIL SK, DANTAS-TORRES F *et al.* First laboratory culture of *Phortica variegata* (Diptera, Steganinae), a vector of *Thelazia callipaeda*. *J. Vect. Ecol.* 2012, **37**, 458-461.

OTRANTO D, DANTAS-TORRES F, BRIANTI E, TRAVERSA D, PETRIĆ D, GENCHI C *et al.* Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe. *Parasite Vector.* 2013a, **6**, 1-14.

OTRANTO D, DANTAS-TORRES F, DE CAPRARIIS D, DI PAOLA G, D TARALLO V, S LATROFA M *et al.* Prevention of canine leishmaniosis in a hyper-endemic area using a combination of 10% imidacloprid/4.5% flumethrin. *PLoS One.* 2013b, **8**, e56374.

PIMENTA P, CARDOSO L, PEREIRA MJ, MALTEZ L, COUTINHO T, ALVES MS *et al.* Canine ocular thelaziosis caused by *Thelazia callipaeda* in Portugal. *Vet. Ophthalmol.* 2013, **16**, 312-315.

RODRIGUES FT, CARDOSO L, COUTINHO T, OTRANTO D, DIZ-LOPES D. Ocular thelaziosis due to *Thelazia callipaeda* in a cat from northeastern Portugal. *J. Feline Med. Surg.* 2012, **14**, 952-954.

ROGGERO C, SCHAFFNER F, BÄCHLI G, MATHIS A, SCHNYDER M. Survey of *Phortica* drosophilid flies within and outside of a recently identified transmission area of the eye worm *Thelazia callipaeda* in Switzerland. *Vet. Parasitol.* 2010, **171**, 58-67.

ROSSI L, BERTAGLIA PP. Presence of *Thelazia callipaeda* Railliet & Henry, 1910, in Piedmont, Italy. *Parassit.* 1989, **31**, 167-172.

ROSSI L, FERROGLIO E, FRASSETTO D, BALBO T. *Thelazia callipaeda* in foxes from North-West Italy. *Parassit.* 2002, **44**, 159.

RUYTOOR P. La thélaziose oculaire du chien et du chat : résultats d'une enquête épidémiologique dans le sud-ouest de la France. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2010, n°102.

RUYTOOR P, DÉAN E, PENNANT O, DORCHIES P, CHERMETTE R, OTRANTO D *et al.* Ocular Thelaziosis in Dogs, France. *Emerg. Infect. Dis.* 2010, **16**, 1943-1945.

SHEN J, GASSER RB, CHU D, WANG Z, YUAN X, CANTACESSI C *et al.* Human Thelaziosis-A Neglected Parasitic Disease of the Eye. *J. Parasitol.* 2006, **92**, 872-875.

SHI YE, HAN JJ, YANG WY, WEI DX. *Thelazia callipaeda* (Nematoda: Spirurida) : transmission by flies from dogs to children in Hubei, China. *T. Roy. Soc. Trop. Med. H.* 1988, **82**, 627.

SOARES C, SOUSA SR, ANASTÁCIO S, MATIAS MG, MARQUÊS I, MASCARENHAS S *et al.* Feline thelaziosis caused by *Thelazia callipaeda* in Portugal. *Vet. Parasitol.* 2013, **196**, 528-531.

VAN DE N, HOA LE T, CHAI JY. The First Human Case of *Thelazia callipaeda* Infection in Vietnam. *Korean J. Parasitol.* 2012, **50**, 221-223.

VIEIRA L, RODRIGUES FT, COSTA Á, DIZ-LOPES D, MACHADO J, COUTINHO T *et al.* First report of canine ocular thelaziosis by *Thelazia callipaeda* in Portugal. *Parasite Vector.* 2012, **5**, 1-5.

YANG CH, TUNG KC, WANG MY, CHANG SC, TU WC, WANG KS *et al.* First *Thelazia callipaeda* Infestation Report in a Dog in Taiwan. *J. Vet. Med. Sci.* 2006, **68**, 103-104.

Annexe 1 : cahier clinique



N°. Cas

[] []

Etude N° Prévithel

«Nom et Adresse ou Cachet du
Vétérinaire»

**Evaluation comparative de l'efficacité du
collier Seresto® et d'Advocate®
dans le cadre de la prévention de l'infestation
par *Thelazia callipaeda* chez le chien**

CAHIER D'OBSERVATION

Version : draft 28 mars 2012

Directeur d'étude

*Pr. Jacques GUILLOT
ENVA
Tél : 01 43 96 71 57
Mobile : 06 71 39 41 05*

Moniteur d'étude

*Charlotte LECHAT
ENVA
Mobile : 06 77 24 66 38*

Support BAYER Health Care - Santé Animale

*13, rue Jean Jaurès
92807 PUTEAUX Cedex
Christophe LE SUEUR
Tél : 01.49.06.57.72
Fax : 01.49.06.57.74
Mobile : 06.20.60.80.71*

Composition du cahier d'observation clinique :

Fiche clinique	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10
MOIS	Mai		Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Dec	Janv
JOUR D'ETUDE	J0	J21								
FICHE D'INFORMATION DU PROPRIETAIRE										
CONSENTEMENT ECLAIRE DU PROPRIETAIRE										
FC1- INFORMATIONS CONCERNANT L'ANIMAL										
FC2- CRITERES D'INCLUSION ET DE NON INCLUSION										
FC3- EXAMEN CLINIQUE & OCULAIRE			[[[[[[
FC4A- TRAITEMENT ADVOCATE®			[[[[[[[[
FICHE DE RANDOMISATION										
FC4B- TRAITEMENT										
· GROUPE CTRL										
· GROUPE SERESTO®										
· GROUPE ADVOCATE®										
FC5- PRELEVEMENT DES NEMATODES SUR L'ŒIL (SI PRESENT)										
FC6- CLOTURE DE L'ETUDE		((((((((
FC7- TRAITEMENTS ANTERIEURS & CONCOMITANTS	(((((((((
FC8- EVENEMENTS INDESIRABLES	(((((((((
FC9- DEVIATIONS AU PROTOCOLE	(((((((((

() Fiche à renseigner seulement si besoin

FICHE D'INFORMATION DU PROPRIETAIRE

Nom de l'animal:	
Nom du propriétaire:	

Nom

Prénom

Madame, Monsieur,

La Thélaziose canine est une maladie parasitaire due à la présence d'un ver du genre *Thelazia*, à la surface de l'œil (dans les culs-de-sac conjonctivaux et les canaux lacrymaux). Cette maladie, encore peu fréquente en France, est transmise par une mouche (*Phortica variegata*) qui se nourrit de larmes. La grande majorité des cas (89%) proviennent de Dordogne. Les symptômes de l'infestation sont une conjonctivite, une production excessive de larmes, une détérioration de la vision. Le diagnostic est réalisé quand on retrouve des vers adultes dans les yeux. . Avec votre vétérinaire, nous vous invitons à faire participer votre chien à une étude clinique. Cette étude est conduite par l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA) avec le soutien du laboratoire Bayer afin d'évaluer l'efficacité préventive sur ce ver parasite et la mouche qui le transmet, de médicaments vétérinaires déjà commercialisés pour d'autres indications parasitaires. Les informations qui suivent vous aideront à comprendre les objectifs de l'étude. Veuillez les lire attentivement et demander à votre vétérinaire de vous expliquer tout ce que vous n'auriez pas parfaitement compris.

➤ **Informations relatives aux médicaments**

Le but de l'étude est d'évaluer l'efficacité d'Advocate® Chien dans la prévention de l'infestation des chiens par le ver *Thelazia callipaeda* et de Seresto® Chien dans la prévention de l'infestation des chiens par la mouche *Phortica variegata*. Vous connaissez peut être ces médicaments vétérinaires qui possèdent déjà une homologation respectivement pour le traitement et la prévention des infestations par les puces, les vers, et certains acariens (parasites externes) chez le chien (avec Advocate®) ou les parasites externes (puces, tiques, poux) avec Seresto®. A la première visite, chaque animal recevra un traitement Advocate. Puis, à partir de la seconde visite (V2), 3 groupes seront créés. Après tirage au sort, votre chien, pourra faire partie d'un des 3 groupes d'étude: s'il fait partie du Groupe A, il sera traité avec le produit testé 1 (Advocate®), s'il fait partie du Groupe B, il sera traité avec le produit testé 2 (Seresto®), s'il fait partie du Groupe C, il sera témoin non traité.

➤ **Informations relatives au déroulement de l'étude**

Cette étude se déroulera sur 9 mois.

- Les animaux du Groupe A (traités Advocate) devront être présentés à la consultation chez votre vétérinaire toutes les 4 semaines durant 9 mois, pour y être examinés et traités (ce qui représente 9 visites). Le suivi clinique complet comportera 10 visites (V10: visite de clôture).
- Les animaux du Groupe B (traités Seresto) devront être présentés à la consultation chez votre vétérinaire 3 fois durant les 9 mois. V1 : pour y être examinés et traités une seule fois avec Advocate, V2 pour y être traités avec le collier Seresto (actif 8 mois). V3 : clôture d'étude. Le suivi clinique complet comportera 3 visites.
- Les animaux du Groupe C (témoins non traités) devront être représentés à la consultation chez votre vétérinaire 2 fois durant les 9 mois de l'étude. V1 : pour y être examinés et traités une seule fois avec Advocate, V2 : clôture d'étude.

Par ailleurs, vous ne devez pas donner à votre chien de médicament ou un quelconque produit de soin (tel que shampoing), avant d'en avoir préalablement averti votre vétérinaire.

Votre vétérinaire pourra, à tout moment, interrompre l'étude s'il juge que c'est dans l'intérêt de votre animal.

Si, pendant la durée de l'étude, votre chien développait des symptômes nouveaux ou inattendus, vous devrez en informer votre vétérinaire le plus rapidement possible.

Votre chien bénéficiera d'un suivi approfondi. Les médicaments testés ainsi que les visites chez votre vétérinaire seront gratuits pour vous, sous réserve que le traitement soit effectué conformément aux indications de votre vétérinaire.

➤ **Confidentialité**

En dehors de votre vétérinaire, seules les personnes désignées par l'ENVA, promoteur de l'étude, du laboratoire pharmaceutique, ou les représentants des autorités sanitaires, auront accès aux données recueillies concernant votre chien au cours de cette étude. Ces personnes sont liées par le secret professionnel. **Si vous avez d'autres questions concernant cette étude, votre vétérinaire y répondra immédiatement.** Nous tenons à vous rappeler que vous êtes totalement libre de retirer votre chien de l'étude à tout moment. Toutefois, si vous prenez cette décision, nous vous prions de bien vouloir contacter immédiatement votre vétérinaire. Nous vous remercions de participer à cette étude.

Bien sincèrement,
 Professeur J. Guillot
 ENVA

Signature de l'investigateur:		Date:	[] [] [] <small>jour mois année</small>
--------------------------------------	--	--------------	---

CONSENTEMENT ECLAIRE DU PROPRIETAIRE

◀ Copie à remettre au propriétaire ▶

Description de l'étude:	Evaluation comparative de l'efficacité du collier Seresto® et d'Advocate® dans le cadre de la prévention de l'infestation par <i>Thelazia callipaeda</i> chez le chien.		
Vétérinaire:	[_____]		
Nom de l'animal:	[_____]	N° du cas	[] [] [] [] [] []
<ol style="list-style-type: none"> 1. Je, soussigné, certifie être le propriétaire (respectivement un représentant autorisé) de l'animal mentionné ci-dessus. 2. J'ai reçu, lu et compris la " Fiche d'Information du Propriétaire ". 3. Le vétérinaire a expliqué la nature de l'étude et le médicament utilisé. Le vétérinaire a répondu à chacune de mes questions concernant l'étude. 4. J'ai informé mon vétérinaire de tous les médicaments administrés à mon animal durant les 30 derniers jours, au mieux de mes connaissances. Je n'administrerai aucun médicament à mon animal durant l'étude, sauf avis de mon vétérinaire. 5. J'autorise volontairement mon animal à participer à cette étude. 6. Je suis d'accord pour que le vétérinaire réalise des examens cliniques, des prélèvements oculaires si besoin, et établisse des scores clinique et d'infestation par <i>Thelazia callipaeda</i>. J'accepte aussi le traitement de mon animal. 7. Je n'exposerai pas mon animal à des bains ou des shampooings durant les 24 heures suivant le traitement, ni plus d'une fois par semaine. 8. J'accepte de coopérer avec mon vétérinaire de façon à ce que l'étude soit menée conformément à toutes les instructions données. Je suis conscient d'être entièrement libre de retirer à tout moment mon animal de l'étude et que cela n'aura pas d'effet sur les soins vétérinaires futurs de mon animal. J'informerai immédiatement mon vétérinaire, si je décide de retirer mon animal de l'étude. 9. J'accepte d'informer mon vétérinaire immédiatement si un animal de mon foyer présente des signes de maladie ou un comportement anormal, ou en cas de la survenue d'un quelconque événement inhabituel. 10. J'accepte de présenter mon animal aux jours de visite convenus. J'informerai à l'avance le vétérinaire dès que possible, si je suis dans l'incapacité de présenter mon animal à l'une de ces visites. 11. J'accepte que des données personnelles soient intégrées et utilisées dans le cadre des études appropriées (incluant sans limite le transfert de données personnelles à d'autres membres du sponsor, aux représentants et personnes sous contrat avec le sponsor, et aux autorités vétérinaires à l'intérieur et à l'extérieur de l'Union Européenne, en relation avec cette étude et les activités de recherche à venir de Bayer et de l'ENVA.) 			
Nom du propriétaire:	[_____] <i>Nom</i>	[_____] <i>Prénom</i>	
Signature :		Date :	[] [] [] <i>jour mois année</i>

CONSENTEMENT ECLAIRE DU PROPRIETAIRE

◀ Copie à conserver par l'investigateur ▶

Description de l'étude:	Evaluation comparative de l'efficacité du collier Seresto® et d'Advocate® dans le cadre de la prévention de l'infestation par <i>Thelazia callipaeda</i> chez le chien.		
Vétérinaire:	[_____]		
Nom de l'animal:	[_____]	N° du cas	[] [] [] [] []
<ol style="list-style-type: none"> 1. Je, soussigné, certifie être le propriétaire (respectivement un représentant autorisé) de l'animal mentionné ci-dessus. 2. J'ai reçu, lu et compris la " Fiche d'Information du Propriétaire ". 3. Le vétérinaire a expliqué la nature de l'étude et le médicament utilisé. Le vétérinaire a répondu à chacune de mes questions concernant l'étude 4. J'ai informé mon vétérinaire de tous les médicaments administrés à mon animal durant les 30 derniers jours, au mieux de mes connaissances. Je n'administrerai aucun médicament à mon animal durant l'étude, sauf avis de mon vétérinaire. 5. J'autorise volontairement mon animal à participer à cette étude. 6. Je suis d'accord pour que le vétérinaire réalise des examens cliniques, des prélèvements oculaires si besoin, et établisse des scores clinique et d'infestation par <i>Thelazia callipaeda</i>. J'accepte aussi le traitement de mon animal. 7. Je n'exposerai pas mon animal à des bains ou des shampooings durant les 24 heures suivant le traitement, ni plus d'une fois par semaine. 8. J'accepte de coopérer avec mon vétérinaire de façon à ce que l'étude soit menée conformément à toutes les instructions données. Je suis conscient d'être entièrement libre de retirer à tout moment mon animal de l'étude et que cela n'aura pas d'effet sur les soins vétérinaires futurs de mon animal. J'informerai immédiatement mon vétérinaire, si je décide de retirer mon animal de l'étude. 9. J'accepte d'informer mon vétérinaire immédiatement si un animal de mon foyer présente des signes de maladie ou un comportement anormal, ou en cas de la survenue d'un quelconque événement inhabituel. 10. J'accepte de présenter mon animal aux jours de visite convenus. J'informerai à l'avance le vétérinaire dès que possible, si je suis dans l'incapacité de présenter mon animal à l'une de ces visites. 11. J'accepte que des données personnelles soient intégrées et utilisées dans le cadre des études appropriées (incluant sans limite le transfert de données personnelles à d'autres membres du sponsor, aux représentants et personnes sous contrat avec le sponsor, et aux autorités vétérinaires à l'intérieur et à l'extérieur de l'Union Européenne, en relation avec cette étude et les activités de recherche à venir de Bayer et de l'ENVA.) 			
Nom du propriétaire:	[_____] <i>Nom</i>	[_____] <i>Prénom</i>	
Signature :		Date :	[] [] [] <i>jour mois année</i>

FC 1- INFORMATIONS CONCERNANT L'ANIMAL

N° du cas:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Date:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
			<i>jour mois année</i>
Nom du propriétaire:	<input type="text"/> <input type="text"/>		
	<i>Nom Prénom</i>		
Adresse du propriétaire:	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	Tél : <input type="text"/>		
Nom de l'animal:	<input type="text"/>		
Race de l'animal	Race pure ? <input type="checkbox"/> Oui, ➡ laquelle : <input type="checkbox"/> Non, ➡ indiquer les principales races (maximum de trois) : X X		
Longueur du poil:	<input type="checkbox"/> Court <input type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Long		
Age:	<input type="text"/> / <input type="text"/>		
	<i>an mois</i>		
Sexe:	<input type="checkbox"/> Mâle <input type="checkbox"/> Femelle	Castré	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Lieu / Mode de vie:	<input type="checkbox"/> Campagne <input type="checkbox"/> Région Urbaine <input type="checkbox"/> A proximité de cultures de fraises		
Foyer	<input type="checkbox"/> Maison/jardin <input type="checkbox"/> Appartement <input type="checkbox"/> Ferme		
Fréquence des sorties	<input type="checkbox"/> Promenades régulières <input type="checkbox"/> Accès libre à l'extérieur <input type="checkbox"/> En permanence à l'extérieur		
L'animal a-t-il eu récemment ou a-t-il de façon récurrente des problèmes de santé ?	<input type="checkbox"/> Oui ➡ <i>compléter la Fiche Clinique « Evènements indésirables »</i> <input type="checkbox"/> Non		
Y a-t-il d'autres carnivores habitant dans le même foyer?	<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="radio"/> Non	Nombre total de carnivores dans le foyer	<input type="text"/>
Le chien est-il en contact avec ces autres carnivores?	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Signature de l'investigateur:			Date: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
			<i>jour mois année</i>

FC 2- CRITERES D'INCLUSION ET DE NON INCLUSION

N° du cas:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	Date:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
						jour	mois	année
CRITÈRES DE NON INCLUSION :								
Le chien a-t-il moins de 7 semaines ?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Est-il encore allaité ?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Pèse-t-il moins de 1 kg ?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Le chien a-t-il déjà présenté des réactions à ADVOCATE® ou à un de ses composants, ou à d'autres spot-on?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Le chien a-t-il déjà présenté des réactions à SERESTO® ou à un de ses composants, ou à d'autres colliers antiparasitaires?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Le chien a-t-il été traité avec une lactone macrocyclique dans les 2 derniers mois ?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Le chien présente-t-il une affection grave concomitante ou préexistante susceptible d'interférer avec l'évaluation de la réponse au traitement ?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Le chien a-t-il besoin d'être baigné/shampoigné durant les 24 heures après le traitement ou plus d'une fois par semaine dans le mois suivant le traitement?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
CRITERES D'INCLUSION:								
Le chien a-t-il déjà présenté par le passé une <i>Thelaziose</i> ?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Le propriétaire adhère-t-il aux exigences du protocole (dates de visite, examens de l'animal, prélèvement & identification des parasites)?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Le propriétaire a-t-il donné son consentement écrit pour que son chien participe à l'étude?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Le propriétaire est-il en mesure de spécifier la nature de tout traitement anthelminthique utilisé pour traiter son chien dans les 30 derniers jours ?						<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
⇒ Le chien peut être inclus dans l'étude uniquement si : la case NON a été cochée pour tous les critères de non inclusion ; et la case OUI pour tous les critères d'inclusion.								
Signature de l'investigateur:					Date:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
						jour	mois	année

VISITE: V ! " "]

FC 3A- EXAMEN CLINIQUE

N° du cas:

--	--	--	--	--	--

Date:

! " "]	! " "]	! " "]
jour	mois	année

ETAT GENERAL :

Observations / Constatations
 (Si NON, s'il vous plaît décrire ci-dessous)


Attitude normale:

 Oui Non

Peau normale

 Oui Non

Autres signes cliniques

 Oui Non Préciser

EXAMEN OCULAIRE :



Aspect des yeux et des paupières

 Normal Anormal
Remplir fiche spécifiquePrésence de nématodes
Thelazia callipaeda sur l'œil
 Non Oui
Combien ?

Autres signes cliniques

EXAMEN PARASITOLOGIQUE (Peau) :

Observations / Constatations
 (Si OUI, s'il vous plaît décrire ci-dessous)
Présence de parasites
externes (puces, tiques...):
 Oui Non
 Si oui, lesquels :
Signature de
l'investigateur:

Date:

! " "]	! " "]	! " "]
jour	mois	année

VISITE: V [] [] []

FC 3B- EXAMEN OPHTALMOLOGIQUE

N° du cas:

--	--	--	--	--

Date:

jour	mois	année

Signes cliniques		Œil droit		Œil gauche		Commentaires
		+ pour signe présent - pour signe absent		+ pour signe présent - pour signe absent		
Blépharospasme		+	-	+	-	
Prurit		+	-	+	-	
Sécrétions oculaires	Séreuses (fluides, claires)	+	-	+	-	
	Mucopurulentes (épaisses, jaunes-vertes)	+	-	+	-	
Paupières	Hyperhémie (rougeur)	+	-	+	-	
	Œdème	+	-	+	-	
	Ulcération	+	-	+	-	
Conjonctives	Hyperhémie (rougeur)	+	-	+	-	
	Chémosis (bourrelet conjonctival)	+	-	+	-	
Cornée	Œdème	+	-	+	-	
	Néovascularisation	+	-	+	-	
	Pigmentation	+	-	+	-	
Test de Schirmer (facultatif)						
Test fluorescéine		+	-	+	-	
Autres						

FC 4A- TRAITEMENT

N° du cas: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>		Date: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Poids (kg): <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>		
 Traitement à l'inclusion <i>(pour tous les chiens quel que soit le groupe)</i>		
Traitement administré:	Nb pipettes	Imidaclopride / Moxidectine
Dose d'Advocate® administrée	<input type="text"/>	Pipette de 0.4 mL Advocate Petit chien
Pour un chien : · 40 kg < chien ≤ 44 kg : 1 pipette Advocate Très grand chien + 1 pipette Advocate Petit chien · 44 kg < chien ≤ 50 kg : 1 pipette Advocate Très grand chien + 1 pipette Advocate Chien Moyen · 50 kg < chien ≤ 75 kg : 1 pipette Advocate Très grand chien + 1 pipette Advocate Grand chien · chien >75 kg : 2 pipettes Advocate Très grand chien :	<input type="text"/>	Pipette de 1.0 mL Advocate Chien Moyen
	<input type="text"/>	Pipette de 2.5 mL Advocate Grand chien
	<input type="text"/>	Pipette de 4.0 mL Advocate Très grand chien
		* Recommandations* :
		1 kg < chien ≤ 4 kg
		4 kg < chien ≤ 10 kg
		10 kg < chien ≤ 25 kg
		25 kg < chien ≤ 40 kg
Date du traitement:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Heure du traitement <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
	<small>JOUR MOIS ANNEE</small>	<small>heure minute</small>
Produit utilisé : Numéro de lot		Date de péremption <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
		<small>MOIS ANNEE</small>
Produit utilisé : Numéro de lot		Date de péremption <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
		<small>MOIS ANNEE</small>
Administration du produit : selon les recommandations*?	<input checked="" type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <i>à compléter la Fiche clinique „Déviations“</i>	
* Chien de moins de 25 kg : produit à administrer en 1 spot entre les deux épaules Chien de plus de 25 kg : produit à administrer en 3 ou 4 points sur la ligne du dos		
Signature de l'investigateur:		Date: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
		<small>jour mois année</small>

Prochain rendez-vous / selon allocation du chien : < Groupe A- Advocate®> <input checked="" type="checkbox"/> V2= V1 + 21 jours (+/-2 jours) < Groupe B- Seresto®> <input checked="" type="checkbox"/> V2= V1 + 21 jours (+/-2 jours) < Groupe C- Contrôle> <input checked="" type="checkbox"/> V2= dans 8 mois	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <small>jour mois année</small> soit le :
---	--



VISITE: V ! " "]			
FC 4B- TRAITEMENT			
N° du cas:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Date:	! " "] ! " "] ! " "] <small>jour mois année</small>
Poids (kg):	! " "], ! " "]		
Traitement en cours d'étude <i>(Compléter ci-dessous selon groupe de randomisation)</i>		<input checked="" type="checkbox"/> Groupe A : Advocate <input checked="" type="checkbox"/> Groupe B : Seresto <input checked="" type="checkbox"/> Groupe C: Contrôle non traité	
Traitement administré:	Nb pipettes	Imidaclopride / Moxidectine	* Recommandations* :
Dose d'Advocate® administrée Pour un chien : <u>40 kg < chien ≤ 44 kg</u> : 1 pipette Advocate Très grand chien + 1 pipette Advocate Petit chien <u>44 kg < chien ≤ 50 kg</u> : 1 pipette Advocate Très grand chien + 1 pipette Advocate Chien Moyen <u>50 kg < chien ≤ 75 kg</u> : 1 pipette Advocate Très grand chien + 1 pipette Advocate Grand chien <u>chien >75 kg</u> : 2 pipettes Advocate Très grand chien :	! "]	Pipette de 0.4 mL Advocate Petit chien	1 kg < chien ≤ 4 kg
	! "]	Pipette de 1.0 mL Advocate Chien Moyen	4 kg < chien ≤ 10 kg
	! "]	Pipette de 2.5 mL Advocate Grand chien	10 kg < chien ≤ 25 kg
	! "]	Pipette de 4.0 mL Advocate Très grand chien	25 kg < chien ≤ 40 kg
SERESTO® <input checked="" type="checkbox"/> POSE A V2 <input checked="" type="checkbox"/> REMPLACEMENT DE COLLIER PERDU		<input checked="" type="checkbox"/> Seresto collier petits chiens <input checked="" type="checkbox"/> Seresto collier grands chiens	
Produit utilisé : Numéro de lot		Date de péremption	! " "] ! " " " "] <small>MOIS ANNEE</small>
Produit utilisé : Numéro de lot		Date de péremption	! " "] ! " " " "] <small>MOIS ANNEE</small>
Administration du produit : selon les recommandations*?	<input checked="" type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> compléter la Fiche clinique „Déviations“		
* Chien de moins de 25 kg : produit à administrer en 1 spot entre les deux épaules Chien de plus de 25 kg : produit à administrer en 3 ou 4 points sur la ligne du dos			
Signature de l'investigateur:		Date:	! " "] ! " "] ! " "] <small>jour mois année</small>

Prochain rendez-vous / selon allocation du chien :	
< Groupe A- Advocate®> <input checked="" type="checkbox"/> V ! " "]	! " "] ! " "] ! " "] <small>jour mois année</small>
< Groupe B- Seresto®> <input checked="" type="checkbox"/> V ! " "]	
< Groupe C- Contrôle> <input checked="" type="checkbox"/> V ! " "]	
soit le :	

FC 5- PRELEVEMENT OCULAIRE ET ANALYSE

Fiche à faxer au laboratoire d'analyse si présence de *Thelazia callipaeda*
(ENVA service de parasitologie et à joindre au prélèvement envoyé.)



N° du cas:

! " " "] ! " " "]

Date du
prélèvement:

! " "] ! " "] ! " "]
jour mois année

Signature

Date

! " "] ! " "] ! " "]
jour mois année

Prélèvement(s) expédié par

Signature

Date

! " "] ! " "] ! " "]
jour mois année

(Personne ayant recueilli les informations, si autre que l'investigateur)

Date d'envoi du
prélèvement:

! " "] ! " "] ! " "]
jour mois année

Explications des
corrections:

RESULTATS DE LABORATOIRE (à remplir par le laboratoire d'analyse)

Date de réception du
prélèvement

! " "] ! " "] ! " "]
jour mois année

Présence de:

Nombre de vers

<i>Thelazia callipaeda</i>	<input type="checkbox"/> Non	
	<input type="checkbox"/> Oui <i>et si oui préciser le nombre de vers:</i>	

Signature:

Date

! " "] ! " "] ! " "]
jour mois année

(Laboratoire – Prélèvement analysé par)

Signature:

Date

! " "] ! " "] ! " "]
jour mois année

(Personne ayant recueilli les informations, si autre que l'investigateur)

Explications des
corrections:



<p>Visite finale V10 <Groupe A> ou V3 <Groupe B> ou V2 <Groupe C> ou Arrêt prématuré</p>										
<p>FC 6- CLOTURE DE L'ETUDE*</p>										
N° du cas:	<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> </tr> </table>					Date:	<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> </tr> </table> <p style="text-align: center; font-size: small;">jour mois année</p>			
Poids (kg):	<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> </tr> </table>									
Fin normale du suivi : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non										
Si Non, cocher la raison principale de l'arrêt prématuré (options A à G):										
A	<input type="checkbox"/>	Aggravation de l'état du chien en rapport avec l'infestation par <i>Thelazia callipaeda</i>								
B	<input type="checkbox"/>	Apparition d'un évènement indésirable grave ➡ compléter la Fiche „Evènements indésirables“								
C	<input type="checkbox"/>	Non coopération ou retrait du consentement du propriétaire ➡ compléter la Fiche „Déviations au protocole“								
D	<input type="checkbox"/>	Erreur d'administration du médicament à l'étude ➡ compléter la Fiche „Déviations au protocole“								
E	<input type="checkbox"/>	Prescription d'un traitement interdit ➡ compléter la Fiche „Traitements concomitants“ et ➡ compléter la Fiche „Déviations au protocole“								
F	<input type="checkbox"/>	Décision d'arrêt de l'étude par le Sponsor								
G	<input type="checkbox"/>	Autre ➡ préciser :								
<p>* L'animal a terminé l'étude lorsque toutes les observations ont été notées, et que toutes les visites ont été effectuées. L'animal n'a pas terminé l'étude quand il a été exclu à cause d'une des raisons listées de "A" à "G".</p>										
Signature de l'investigateur:		Date:								
		<table border="1" style="width: 100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> <td style="width: 25px;"> </td> </tr> </table> <p style="text-align: center; font-size: small;">jour mois année</p>								



FC 9- DEVIATIONS AU PROTOCOLE		
N° du cas:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Date: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <i>jour mois année</i>
<input type="checkbox"/> Le protocole n'a pas été respecté dans les circonstances décrites ci-dessous :		
Description de la déviation		Date de la déviation: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <i>jour mois année</i>
Raison(s)		
Mesure(s) prise(s) :		
Description de la déviation		Date de la déviation: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <i>jour mois année</i>
Raison(s)		
Mesure(s) prise(s) :		
Description de la déviation		Date de la déviation: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <i>jour mois année</i>
Raison(s)		
Mesure(s) prise(s) :		
Description de la déviation		Date de la déviation: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <i>jour mois année</i>
Raison(s)		
Mesure(s) prise(s) :		
Signature de l'investigateur:		Date: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <i>jour mois année</i>

Annexe 2 : méthode d'identification des facteurs de confusion potentiels

Soit une exposition X, l'exposition d'intérêt E et une maladie M. L'exposition X est qualifiée de facteur de confusion potentiel dans l'estimation de l'association causale entre l'exposition E et la maladie M si les trois critères suivants sont vérifiés :

- (1) X n'est pas une conséquence de M ;
- (2) X est associée à M dans l'échantillon avec un degré de signification $p < 0,20$;
- (3) X est associée à E dans l'échantillon avec un degré de signification $p < 0,20$.

PRÉVENTION DE LA THÉLAZIOSE OCULAIRE DU CHIEN

NOM et Prénom : LECHAT Charlotte

RÉSUMÉ

La thélaziose oculaire due au nématode *Thelazia callipaeda* est une parasitose émergente en Europe. La mise en place de mesures de prévention est requise pour les chiens qui séjournent ou qui voyagent dans les zones d'enzootie. Lors de ce travail de thèse vétérinaire, nous avons participé à un essai clinique en Dordogne de mai 2012 à janvier 2013. Trois groupes de chiens ont été constitués : un groupe traité mensuellement avec un *spot on* contenant de l'imidaclopride et de la moxidectine, un groupe traité au début de l'étude avec un collier contenant de l'imidaclopride et de la fluméthrine et un groupe contrôle non traité. Aucun chien du groupe traité par *spot on* mensuel n'a développé de thélaziose durant ou au terme de la période d'étude alors que 33,3 % (12/36) des chiens du groupe traité par le collier et 29,6 % (8/27) des chiens du groupe contrôle ont été infestés par *Thelazia callipaeda*. Au total, 66 % des chiens atteints de thélaziose ont présenté une hyperhémie conjonctivale et 24 % des chiens n'ont présenté aucun signe clinique. Il semble que l'application mensuelle d'un *spot on* contenant de l'imidaclopride et de la moxidectine soit un facteur de protection de la thélaziose chez le chien, et donc efficace pour prévenir de l'infestation par le nématode *Thelazia callipaeda*. En revanche, le collier contenant de l'imidaclopride et de la fluméthrine ne semble pas être efficace pour la prévention de l'infestation via la drosophile, vectrice de *Thelazia callipaeda*. Aucun facteur de risque de la thélaziose pris en compte dans l'étude n'a été mis en évidence. Toutefois, les chiennes pourraient être plus à risque que les chiens d'être infestées par le parasite.

MOTS-CLÉS : PARASITOSE / THÉLAZIOSE / *Thelazia callipaeda* / ŒIL / MALADIE ÉMERGENTE / ESSAI CLINIQUE / PROPHYLAXIE / MOXIDECTINE / CARNIVORE / CHIEN / EUROPE

Jury :

Président : Pr.

Directeur : P^r Jacques GUILLOT

Assesseur : D^r Sabine CHAHORY

Invité :

PREVENTION OF OCULAR THELAZIOSIS IN DOGS

SURNAME: LECHAT

Given name: Charlotte

SUMMARY

The ocular thelaziosis due to the nematode *Thelazia callipaeda* is an emerging parasitosis in Europe. Preventive measures are required for dogs which spend time or travel in enzootic areas. With this veterinary thesis, we have contributed to a clinical assay in Dordogne from may 2012 to january 2013. Three dog groups have been set: one group treated once per month with an imidacloprid and moxidectin *spot-on*, one group carrying an imidacloprid and flumethrin collar at the beginning of the assay and one control group without any treatment. None of the dogs in the group treated monthly with the *spot-on* had been developing thelaziosis during or at the end of the assay period while 33,3% (12/36) of dogs in the group treated with the collar and 29,6% (8/27) of dogs in the control group were infested by *Thelazia callipaeda*. In total, 66% of dogs suffering from thelaziosis have shown a conjunctival hyperhemia and 24% of dogs have shown no clinical signs. It would seem that the monthly application of a *spot-on* containing imidacloprid and moxidectin is a protection factor of thelaziosis in dogs and so, effective to prevent from the infestation by the nematode *Thelazia callipaeda*. On the other hand, the collar containing imidacloprid and flumethrin wouldn't seem to be effective to prevent the infestation through the drosophilid, vector of *Thelazia callipaeda*. None hazard factor of thelaziosis taken into account in the assay was highlighted. However, the risk of an infestation by the parasite could be higher for the female dogs than the males.

KEYWORDS : PARASITOSIS / THELAZIOSIS / *Thelazia callipaeda* / EYE / EMERGING DISEASE / CLINIC ASSAY / PROPHYLAXY / MOXIDECTIN / CARNIVORE / DOG / EUROPE

Jury :

President : Pr.

Director : P^r Jacques GUILLOT

Assessor : D^r Sabine CHAHORY

Guest :