RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2021 – Thèse n° 135

ANALYSE PHARMACOCINETIQUE DU FLURALANER DANS LE CADRE D'UNE ETUDE PILOTE SUR LE TRAITEMENT ANTIPARASITAIRE DE 9 ESPECES DE CARNIVORES SAUVAGES EN PARC ZOOLOGIQUE

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 17 décembre 2021
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

BELHADJ Dalil

UNIVERSITÉ DE LYON

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2021 – Thèse n° 135

ANALYSE PHARMACOCINETIQUE DU FLURALANER DANS LE CADRE D'UNE ETUDE PILOTE SUR LE TRAITEMENT ANTIPARASITAIRE DE 9 ESPECES DE CARNIVORES SAUVAGES EN PARC ZOOLOGIQUE

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 17 décembre 2021
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

BELHADJ Dalil

UNIVERSITÉ DE LYON

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon *(01-09-2021)*

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur émérite
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOSCA	Marion	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

Remerciements du jury

A Madame le Professeur Martine WALLON,
De l'*Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de médecine de Lyon Sud*,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,
Qu'elle trouve ici l'expression de mes hommages respectueux.

A Monsieur le Docteur Philippe BERNY,
De *VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon*,
Pour son accompagnement tout au long de l'élaboration de ce travail,
Pour sa gentillesse et sa bienveillance,
Qu'il trouve ici l'expression de mes sincères remerciements.

A Madame le Docteur Magalie RENE-MARTELLET,
De *VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon*,
Pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse,
Pour l'intérêt porté à ce travail,
Qu'elle trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Table des matières

TABLE DES ANNEXES **11**

TABLE DES FIGURES **13**

TABLE DES TABLEAUX **15**

LISTE DES ACRONYMES ET ABREVIATIONS **17**

INTRODUCTION **19**

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE : ETAT DES LIEUX DU PARASITISME EXTERNE EN PARC ZOOLOGIQUE ET DES MOYENS DE LUTTE CONTRE CES PARASITES **21**

I. L'IMPORTANCE DU PARASITISME EXTERNE EN PARC ZOOLOGIQUE 23
- *a. Données et études en zoo sur le parasitisme externe 23*
- *b. Inventaire des principaux ectoparasites trouvés en parc zoologique 23*
  - i. Rappels sur la biologie des puces 23
  - ii. Rappels sur la biologie des tiques 25
  - iii. Etat des lieux du parasitisme chez les espèces étudiées et données bibliographiques associées 28
    1. Chez le lion de l'Atlas 28
    2. Chez le jaguar 30
    3. Chez le puma 32
    4. Chez le fossa 35
    5. Chez le suricate 36
    6. Chez le loup ibérique 38
    7. Chez le chien des buissons 40
    8. Chez le coati roux 42
    9. Chez la loutre d'Europe 43
- *c. Rôle des ectoparasites dans la transmission de maladies vectorielles 45*
  - i. Inventaire des agents pathogènes transmis par les puces et les tiques 45
  - ii. Les maladies vectorisées par les ectoparasites, des zoonoses graves 47

II. UNE NOUVELLE FAMILLE D'ANTIPARASITAIRES EXTERNES, LES ISOXAZOLINES 49
- *a. Présentation générale des isoxazolines 49*
- *b. Le fluralaner, une nouvelle molécule 52*
  - i. Présentation générale du fluralaner 52
  - ii. Pharmacodynamie du fluralaner 53
  - iii. Pharmacocinétique du fluralaner 54
    1. Rappel sur des notions importantes de pharmacocinétique 54
    2. Etude pharmacocinétique du fluralaner suite à une administration par voie intra-veineuse chez le chien 57
    3. Etude pharmacocinétique du fluralaner suite à une administration par voie orale chez le chien 58
    4. Etude pharmacocinétique du fluralaner suite à une administration par voie topique (*spot-on*) chez le chien 61
    5. Etude pharmacocinétique du fluralaner suite à une administration par voie topique (*spot-on*) chez le chat 64
  - iv. Toxicité, tolérance et interactions 66
  - v. Spectre d'action du fluralaner chez les chiens et les chats 68
  - vi. Vers une application aux carnivores sauvages ? 69

***PARTIE EXPERIMENTALE : MISE EN PLACE D'UN PROTOCOLE EXPERIMENTAL POUR ETUDIER LA PHARMACOCINETIQUE DU FLURALANER CHEZ LES CARNIVORES SAUVAGES* . 70**

I. PREAMBULE : OBJECTIFS DE L'ETUDE 71
II. MATERIEL ET METHODES 72
a. Population étudiée et présentation des espèces 72
b. Méthodologie d'étude et protocole expérimental 73
i. Traitement des individus : méthode d'extrapolation des doses de fluralaner appliquée aux carnivores sauvages en parc zoologique 73
ii. Quantité de comprimés administrée 77
iii. Prélèvement des échantillons sur le terrain 79
iv. Analyses de laboratoire 80
1. Préambule : validation du protocole expérimental de dosage du fluralaner 80
2. Extraction des substances liposolubles 82
3. Séparation des composés 83
4. Détection et identification du fluralaner dans les fèces 86
5. Construction de courbes étalon et régressions linéaires 88
III. RESULTATS DE L'ETUDE 91
a. Concentrations moyennes de fluralaner après traitement chez les caniformes 91
b. Concentrations moyennes de fluralaner après traitement chez les féliformes 93
IV. DISCUSSION 95
a. Interprétation des résultats 95
b. Limites, biais de l'étude et perspectives 97

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 103

ANNEXES 113

Table des annexes

ANNEXE 1 – VALIDATION DU PROTOCOLE D'EXTRACTION DU FLURALANER 113
ANNEXE 2 - PROTOCOLE DETAILLE CHEZ LES LIONS D'AFRIQUE 126
ANNEXE 3 - CONCENTRATIONS DETAILLEES DE FLURALANER DANS LES FECES DE L'ENSEMBLE DES INDIVIDUS DE L'ETUDE 128
ANNEXE 4 – EXEMPLE DE FICHE DE LABORATOIRE UTILISEE POUR L'ANALYSE DES ECHANTILLONS 134

Table des figures

Figure 1 – Cycle de vie schematique de Ctenocephalides felis 23
Figure 2 – Morphologie de la puce du chat, Ctenocephalides felis (male) 24
Figure 3 – Morphologie des tiques (au microscope electronique) 25
Figure 4 – Exemple de cycle evolutif d'une tique : Ixodes ricinus 26
Figure 5 – Un lion de l'Atlas dans son enclos au Parc Zoologique de Paris 28
Figure 6 – Aire de distribution geographique du lion de l'Atlas entre 1900 et 1960 28
Figure 7 - Aramis, jaguar male du Parc Zoologique de Paris 30
Figure 8 - Aire de distribution geographique du jaguar a l'etat sauvage sur le continent americain 31
Figure 9 - Un puma du Parc Zoologique de Paris 32
Figure 10 - Aire de distribution geographique du puma a l'etat sauvage sur le continent americain 33
Figure 11 - Un fossa du Parc Zoologique de Paris 35
Figure 12 - Aire de distribution geographique du fossa a l'etat sauvage sur l'ile de Madagascar. 35
Figure 13 - Suricates du Parc Zoologique de Paris 36
Figure 14 - Aire de distribution geographique du suricate a l'etat sauvage 37
Figure 15 - Un loup iberique du Parc Zoologique de Paris 38
Figure 16 - Aire de distribution geographique du loup iberique a l'etat sauvage 39
Figure 17 - Un chien des buissons du Parc Zoologique de Paris 40
Figure 18 - Aire de distribution geographique du chien des buissons a l'etat sauvage 40
Figure 19 - Un coati roux du Parc Zoologique de Paris 42
Figure 20 - Aire de distribution geographique du coati roux a l'etat sauvage 42
Figure 21 - Dieko, loutre d'Europe du Parc Zoologique de Paris 43
Figure 22 - Aire de distribution geographique de la loutre d'Europe a l'etat sauvage 44
Figure 23 – Developpement des isoxazolines 49
Figure 24 - Formules topologiques des insecticides derives d'isoxazolines 50
Figure 25 - Formule topologique du fluralaner 52
Figure 26 - Site de fixation du fluralaner sur les canaux chlorure du recepteur GABA 54
Figure 27 - Schematisation du trajet d'un medicament dans l'organisme selon la voie d'administration 55
Figure 28 - Concentrations plasmatiques de fluralaner chez le chien apres une administration unique par voie intraveineuse 58
Figure 29 - Concentrations plasmatiques de fluralaner chez le chien apres une administration unique par voie orale 60
Figure 30 - Concentrations plasmatiques de fluralaner chez le chien apres une administration unique par voie topique (spot-on) 63
Figure 31 - Concentrations plasmatiques de fluralaner chez le chat apres une administration unique par voie topique (spot-on) 65
Figure 32 - BRAVECTO® comprimes a croquer pour chiens 68
Figure 33 - BRAVECTO® spot-on pour chiens 68
Figure 34 - BRAVECTO® spot-on pour chats 69
Figure 35 - Principe de la cascade veterinaire 71
Figure 36 – Pots de prelevement divers reçus au laboratoire de VetAgro Sup 79
Figure 37 – Balance de precision utilisee pour la pesee des echantillons et echantillons avant

PASSAGE DANS LA CENTRIFUGEUSE 83
FIGURE 38 - PRINCIPE DE LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE 84
FIGURE 39 – CHROMATOGRAPHE UTILISE POUR L'ETUDE 85
FIGURE 40 - CHROMATOGRAMMES DU FLURALANER ET DU LOTILANER OBTENUS LORS DE LA VALIDATION DU PROTOCOLE 85
FIGURE 41 – SPECTROMETRE DE MASSE UTILISE POUR L'ETUDE 86
FIGURE 42 - SPECTRES DE MASSE DU FLURALANER ET DU LOTILANER 88
FIGURE 43 - COURBES DE REGRESSION LINEAIRE UTILISEES POUR LES GAMMES « ETALONS » ET « FECES » LORS DE LA VALIDATION DU PROTOCOLE 89
FIGURE 44 - CONCENTRATION EN FLURALANER DANS LES FECES APRES UNE ADMINISTRATION UNIQUE PAR VOIE ORALE CHEZ LES CANIFORMES SAUVAGES 91
FIGURE 45 - CONCENTRATION EN FLURALANER DANS LES FECES APRES UNE ADMINISTRATION UNIQUE PAR VOIE ORALE CHEZ LE PUMA ET LE JAGUAR 93
FIGURE 46 - CONCENTRATION EN FLURALANER DANS LES FECES APRES UNE ADMINISTRATION UNIQUE PAR VOIE ORALE CHEZ LE LION DE L'ATLAS 93
FIGURE 47 – JOUR MAXIMAL POUR LEQUEL A ETE DOSE LE FLURALANER A UNE CONCENTRATION SUPERIEURE A LA LIMITE DE DETECTION 96

Table des tableaux

TABLEAU I – ECTOPARASITES RETROUVES SUR DES PUMAS ET DES JAGUARS DANS LE CHACO, AU PARAGUAY ENTRE 2002 ET 2004 34
TABLEAU II – AGENTS PATHOGENES TRANSMIS PAR LES TIQUES RENCONTRES CHEZ LES ESPECES CONCERNEES PAR L'ETUDE 46
TABLEAU III - PRINCIPALES INFORMATIONS CLINIQUES DES DERIVES D'ISOXAZOLINES UTILISES EN MEDECINE VETERINAIRE 51
TABLEAU IV – PRINCIPALES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU FLURALANER 53
TABLEAU V - PRESENTATION DES PRINCIPAUX PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES D'UN MEDICAMENT 56
TABLEAU VI - PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES PLASMATIQUES DU FLURALANER CHEZ LE CHIEN SUITE A UNE UNIQUE ADMINISTRATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE 57
TABLEAU VII - PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES PLASMATIQUES DU FLURALANER CHEZ LE CHIEN SUITE A UNE UNIQUE ADMINISTRATION PAR VOIE ORALE 59
TABLEAU VIII - PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES PLASMATIQUES DU FLURALANER CHEZ LE CHIEN SUITE A UNE UNIQUE ADMINISTRATION PAR VOIE TOPIQUE (SPOT-ON) 62
TABLEAU IX - PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES PLASMATIQUES DU FLURALANER CHEZ LE CHAT SUITE A UNE UNIQUE ADMINISTRATION PAR VOIE TOPIQUE (SPOT-ON) 64
TABLEAU X - INFORMATIONS SUR L'ECOTOXICITE DU FLURALANER 67
TABLEAU XI - SPECTRE ET DUREE D'ACTION DES TROIS PRESENTATIONS DU BRAVECTO® CHEZ LES CHIENS ET LES CHATS 68
TABLEAU XII – POPULATION DE L'ETUDE 73
TABLEAU XIII - VALEUR DE LA CONSTANTE a SELON LE GROUPE TAXINOMIQUE ETUDIE ET LA TEMPERATURE CORPORELLE MOYENNE DES ESPECES 75
TABLEAU XIV - TAUX METABOLIQUE DE BASE DES ESPECES DE L'ETUDE 76
TABLEAU XV - DOSE TOTALE CIBLE A ADMINISTRER ET DOSAGE CORRESPONDANT PAR ESPECE ETUDIEE 77
TABLEAU XVI - QUANTITE DE COMPRIMES ADMINISTREE A CHAQUE INDIVIDU DE L'ETUDE ET DOSAGE REEL CORRESPONDANT 78
TABLEAU XVII – PARAMETRES DE CARACTERISATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE EMPLOYEE 81
TABLEAU XVIII - PARAMETRES ETUDIES DANS LES PROCESSUS DE FRAGMENTATION DES IONS POUR LE FLURALANER ET LE LOTILANER DANS LE SPECTROMETRE DE MASSE 87
TABLEAU XIX - PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES FECAUX DU FLURALANER CHEZ LES CANIFORMES SAUVAGES SUITE A UNE UNIQUE ADMINISTRATION PAR VOIE ORALE 92
TABLEAU XX - PARAMETRES PHARMACOCINETIQUES FECAUX DU FLURALANER CHEZ LES FELIFORMES SAUVAGES SUITE A UNE UNIQUE ADMINISTRATION PAR VOIE ORALE 94

Liste des acronymes et abréviations

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSES : Agence Nationale de SEcurité Sanitaire

AUC : aire sous la courbe (*Area Under the Curve*)

BCF : facteur de bioconcentration (*BioConcentration Factor*)

CRI : *Constant Rate Injection*

DT_{50} *:* temps de demi-vie

EBOB : [^{3}H]-ethynylbicycloorthobenzoate

EC_{50} : concentration efficace médiane

ESI : ionisation par électronébuliseur (*ElectroSpray Ionization*)

GABA : acide gamma-aminobutyrique (*Gamma-AminoButyric Acid*)

IV : intraveineux

Koc : coefficient de partage carbone organique/eau

LC50 : concentration létale 50 (*Lethal Concentration 50*)

LC-MS-MS : chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse en tandem

LLOQ : limite de quantification basse (*Lower Limit Of Quantitation*)

LOD : limite de détection (*Limit Of Detection*)

LSD : diéthyllysergamide (*Lysergic acid diethylamide*)

MDR1 : *Multi-Drug Resistance*

MEVE : Méningo-Encéphalite Verno-Estivale

MRM : *Multiple Reactions Monitoring*

MRT : temps de résidence moyen (*Mean Residence Time*)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONG : Organisation Non Gouvernementale

PEG : polyéthylène glycol

pH : Potentiel Hydrogène

PO : *per os*

Pow *:* coefficient de partage octanol/eau

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

SI : Système International

TMB : Taux Métabolique de Base

UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature

ULOQ : limite de quantification haute (*Upper Limit Of Quantitation*)

Introduction

La gestion du parasitisme chez les carnivores domestiques est une préoccupation majeure des vétérinaires du XXIe siècle. Il en est non seulement de la santé animale mais également de la santé publique étant donné l'importance des maladies zoonotiques transmises par des parasites. Le concept récent d'anthelminthorésistance place la lutte anti-parasitaire au centre des considérations thérapeutiques actuelles. Aussi, de nombreuses spécialités pharmacologiques ont vu le jour au fil des années afin de lutter efficacement contre les parasites externes et internes.

Très récemment, la famille des isoxazolines est née, parmi laquelle se trouve le fluralaner, employé en tant qu'antiparasitaire contre les puces, les tiques et quelques acariens dont *Sarcoptes scabiei var. canis* (responsable de la gale sarcoptique) et *Demodex canis* (responsable de la démodécie canine).

Ces préoccupations se retrouvent en parc zoologique où la gestion sanitaire des espèces sauvages en captivité est primordiale et où le personnel animalier (soigneurs, vétérinaires…) est particulièrement exposé aux maladies zoonotiques transmises par des parasites.
De nombreuses études montrent que le parasitisme représente une part non négligeable des motifs d'intervention réguliers des vétérinaires, le parasitisme pouvant avoir de fortes répercussions sur l'état général des animaux en captivité. Il devient donc nécessaire d'anticiper ces troubles en les traitant régulièrement.

Cependant, il n'existe actuellement aucune AMM pour l'utilisation d'antiparasitaires externes chez des espèces sauvages en parc zoologique. Le principe de la cascade s'applique alors quand cela est jugé nécessaire.
En collaboration avec le Parc Zoologique de Paris, il a été décidé de mettre en place une étude afin d'évaluer la rémanence d'un traitement antiparasitaire externe à base de fluralaner (*BRAVECTO®*) et d'en dresser ainsi le profil pharmacocinétique chez des espèces de carnivores sauvages.
Le but ultime est de pouvoir à l'avenir généraliser ces traitements à l'ensemble des espèces carnivores, qu'elles soient domestiques ou sauvages.

La première partie sera consacrée à un rappel bibliographique sur la parasitologie chez les espèces sauvages en parc zoologique et sur la pharmacocinétique du fluralaner chez les carnivores domestiques.

La deuxième partie, expérimentale, détaillera la mise en place d'une étude pilote sur la pharmacocinétique du fluralaner chez des carnivores sauvages avec son protocole expérimental ainsi qu'à l'analyse des résultats obtenus en laboratoire.

Partie bibliographique

Etat des lieux du parasitisme externe en parc zoologique et des moyens de lutte contre ces parasites

I. L'importance du parasitisme externe en parc zoologique

a. *Données et études en zoo sur le parasitisme externe*

Quelques études ont été réalisées dans différents zoos du monde entier pour tenter de décrire l'ensemble des parasites externes que l'on peut retrouver chez des espèces sauvages captives en parc zoologique.

Une grande étude, conduite entre 1990 et 2017 par la « Zoological Park Foundation of São Paulo » (FPZSP) a permis de dénombrer l'ensemble des tiques qui avaient été observées sur les animaux du Zoo de São Paulo (*Gonzalez et al. 2017*). 523 spécimens de tiques, appartenant à 10 espèces différentes, ont été retrouvés.

D'autres études ont été menées dans différentes régions du monde pour caractériser les populations de tiques et de puces chez certains animaux sauvages : elles sont précisées dans les sous-parties suivantes.

b. *Inventaire des principaux ectoparasites trouvés en parc zoologique*

i. *Rappels sur la biologie des puces*

Taxinomie, morphologie et cycle évolutif

Plus de 2 200 espèces et sous-espèces de puces sont rencontrées dans le monde, parmi lesquelles, entre autres, *Ctenocephalides felis felis* (la plus rencontrée, chez le chat), *Ctenocephalides canis* ou encore *Pulex simulans*. Elles appartiennent à l'ordre des siphonaptères (ou aphaniptères), des insectes dépourvus d'ailes, de petite taille et au cycle holométabole, c'est-à-dire constitué de métamorphoses complètes à chaque étape. Ainsi, une puce pond jusqu'à 40 œufs par jour, qui deviennent ensuite des larves (trois stades de larves sont dénombrés) avant de se transformer en pupe, de laquelle émergera la puce adulte (Figure 1, Figure 2) *(Dobler et Pfeffer 2011; Iannino 2017; Sousa 1997).*

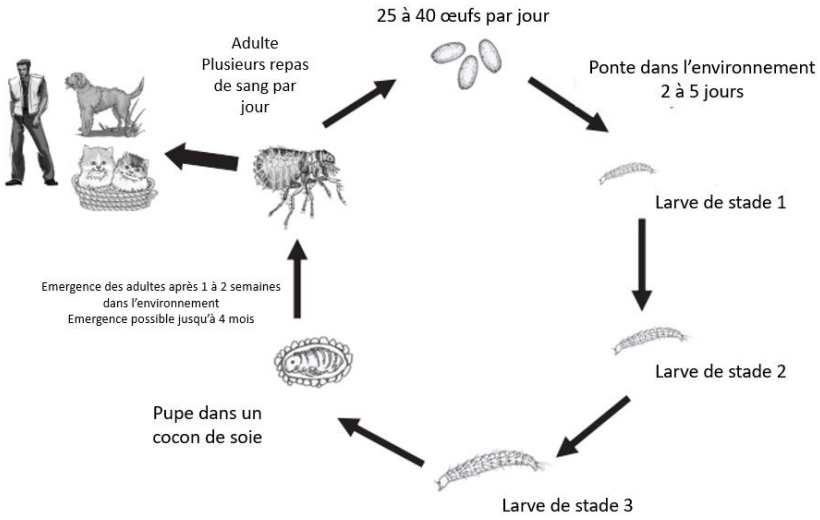


Figure 1 – Cycle de vie schématique de Ctenocephalides felis[1]

[1] La durée du cycle peut varier de 15 jours à un an (selon les conditions environnementales de température et d'hygrométrie).

Figure 2 – Morphologie de la puce du chat, Ctenocephalides felis (mâle)

D'après *(Durden et Hinkle 2019)*

Habitat

De manière générale, les puces se retrouvent sur leur hôte lors de leur repas et dans le milieu de vie de leur hôte en dehors des repas.
Elles se répartissent partout dans le Monde, dans des zones chaudes et humides, propices à leur développement (*Roberts et Janovy 2000*).

Nutrition

Après avoir au préalable percé la peau de leur hôte, les puces utilisent leurs pièces buccales pour sucer leur sang. Celui-ci transite ensuite via les cellules épithéliales dans les viscères, où le repas est digéré (*M. W. Dryden et Gaafar 1991*).
Les larves de puces, elles, se nourrissent des fèces des puces adultes et des déchets dans l'environnement (*M. W. Dryden et Gaafar 1991*).

Pouvoir pathogène

Les puces qui sont phylogénétiquement très proches de leur hôte sont plus susceptibles d'héberger les mêmes agents pathogènes.
Elles sont vectrices de nombreux agents pathogènes, dont le plus grave est l'agent responsable de la peste, *Yersinia pestis*, mais aussi d'autres bactéries responsables de zoonoses[2] comme le typhus murin ou la bartonellose, plus communément appelée la « maladie des griffes du chat » *(Bitam et al. 2010a).*
Elles ont aussi un pouvoir pathogène direct : à titre d'exemple, *Tunga penetrans,* plus communément appelée la « puce chique », est responsable chez l'homme de la tungose qui se manifeste par du prurit intense (permettant à la puce de libérer ses œufs dans l'environnement) et, si aucun traitement n'est mis en place, donne lieu à des infections secondaires (clostridies, staphylocoques) et, dans les cas les plus graves, de la gangrène ou des lymphœdèmes *(Bitam et al. 2010b).*

La prévention de ces maladies passe par l'utilisation d'insecticides sur les animaux sensibles mais également par des mesures d'hygiène stricte de l'environnement des puces *(Bitam et al. 2010a).*

[2] Définie par l'OMS comme « toute maladie ou infection qui est transmissible naturellement depuis les animaux vertébrés vers l'espèce humaine et vice-versa » (*Moutou 2015*)

ii. Rappels sur la biologie des tiques

Taxinomie, morphologie et cycle évolutif

Il existe environ 900 espèces de tiques, principalement répartis en deux familles : les Ixodidés et les Argasidés, ou plus familièrement, les tiques « dures » et les tiques « molles » (Figure 3) (*A. Estrada-Peña 2015a*).

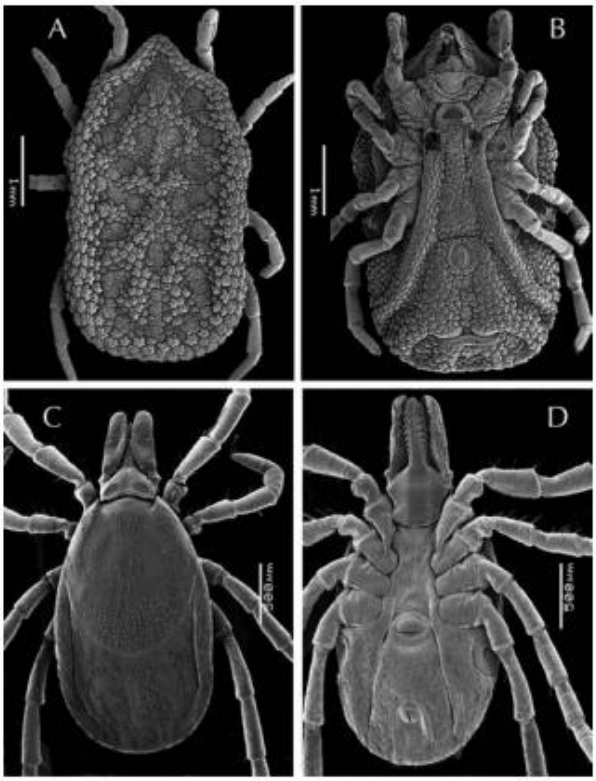


Figure 3 – Morphologie des tiques (au microscope électronique)

D'après *(A. Estrada-Peña 2015a)*
A et B : vues ventrale et dorsale d'une femelle *Ornithodoros puertoricensis,* de la famille des Argasidés
C et D : vues dorsale et ventrale d'une femelle *Ixodes ricinus*, de la famille des Ixodidés

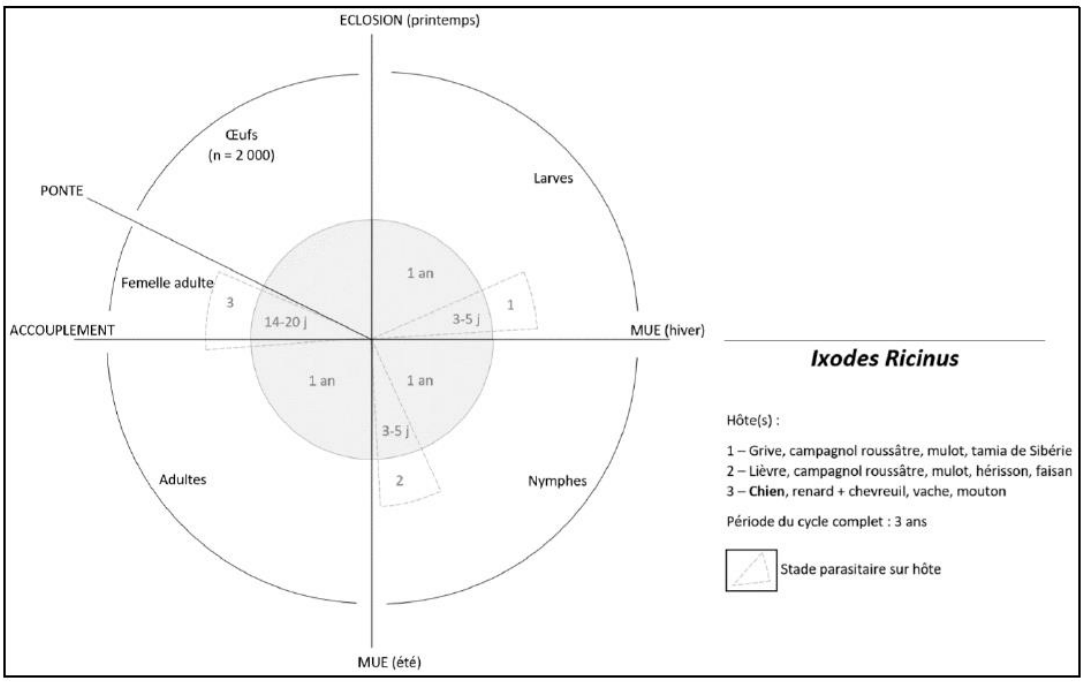


Figure 4 – Exemple de cycle évolutif d'une tique : Ixodes ricinus

D'après *(Cassar 2020)*

Le cycle de vie des tiques est relativement complexe, dans la mesure où il requiert plusieurs hôtes pour être complet. Il est également long. Par exemple, le cycle de vie des tiques du genre *Ixodes* peut parfois durer jusqu'à six ans dans certaines conditions environnementales *(Vechtova et al. 2020)*.
La tique émerge d'un œuf qui subit une métamorphose et passe ensuite par plusieurs stades de vie, incluant la larve, la nymphe et enfin l'adulte (Figure 4).
Chaque passage d'un stade à un autre (mue) est conditionné par la réalisation d'un repas sanguin sur un hôte très variable (reptiles, oiseaux, petits et grands mammifères) *(Walker 2009).*

Habitat
On retrouve des populations de tiques partout dans le monde. Leur présence dans un biotope plutôt qu'un autre est conditionnée par les conditions environnementales qui ont aussi un impact non-négligeable sur le développement des tiques. La température peut ainsi influer sur le passage d'un stade de la tique à un autre, ou encore modifier son aire de répartition géographique *(Agustin Estrada-Peña et Fernández-Ruiz 2020).*

Nutrition
A l'instar des puces, les tiques sont strictement hématophages, c'est-à-dire qu'elles se nourrissent exclusivement du sang de leur hôte.
La tique sécrète dans un premier temps une substance protéique adhésive appelée « cément », leur permettant de se fixer sur leur hôte *(Suppan et al. 2018)*. De la salive est ensuite émise en grande quantité et a un effet anti-hémostatique, permettant un apport optimal de sang dans la cavité buccale de la tique *(Chmelar et al. 2012; A. Estrada-Peña 2015b).*

Reproduction

Les femelles adultes se reproduisent avec le mâle directement sur l'hôte, pendant le repas de sang. Une éclosion peut donner lieu à une population de 2000 à 4000 œufs *(A. Estrada-Peña 2015b).*

Pouvoir pathogène

Les pathogènes transmis par les tiques sont responsables de la majorité des maladies vectorielles dans le monde. Aux Etats-Unis par exemple, ils comptent pour 95 % d'entre elles *(Rochlin et Toledo 2020).*

Ainsi, on peut citer par exemple les flavivirus, responsables d'encéphalites, les rickettsies, des bactéries intracellulaires à l'origine, entre autres, de la fièvre pourprée des montagnes Rocheuses aux Etats-Unis ou encore des parasites à l'origine de babésioses humaines. Plus communément en Europe, on peut trouver la maladie de Lyme, due à un complexe bactérien de spirochètes, *Borrelia burgdorferi (Rochlin et Toledo 2020).* De plus amples informations sur les maladies transmises par les tiques sont présentes plus loin dans ce manuscrit.

Les mesures de lutte contre ces parasites passent non seulement par des diagnostics et des traitements médicaux efficaces pour les populations exposées mais également par des mesures sanitaires importantes pour endiguer la propagation des individus et contrôler les vecteurs. Bien que des vaccins permettent de prévenir l'apparition de certaines maladies, ils ne garantissent pas une protection totale contre ces espèces qui sont impliquées dans une multitude de vecteurs et d'agents pathogènes. L'émergence de nouvelles tiques et l'introduction de nouveaux agents pathogènes nécessitent de s'adapter constamment en envisageant de nouvelles solutions *(Rochlin et Toledo 2020).*

iii. Etat des lieux du parasitisme chez les espèces étudiées et données bibliographiques associées

1. Chez le lion de l'Atlas

(a) Présentation de l'espèce

Figure 5 – Un lion de l'Atlas dans son enclos au Parc Zoologique de Paris
Source : Parc Zoologique de Paris, © François-Gilles Grandin (Le lion d'Afrique s. d.)

Lion de l'Atlas,
ou lion de Barbarie
Panthera leo leo

Taxonomie	Ordre des carnivores Sous-ordre des féliformes Famille des félidés
Poids moyen	120 à 200 kg
Taille moyenne	Jusqu'à 2 m 50 de long, environ 1 m au garrot
Espérance de vie moyenne	15 ans (jusqu'à 25 ans en captivité)
Alimentation	Carnivore

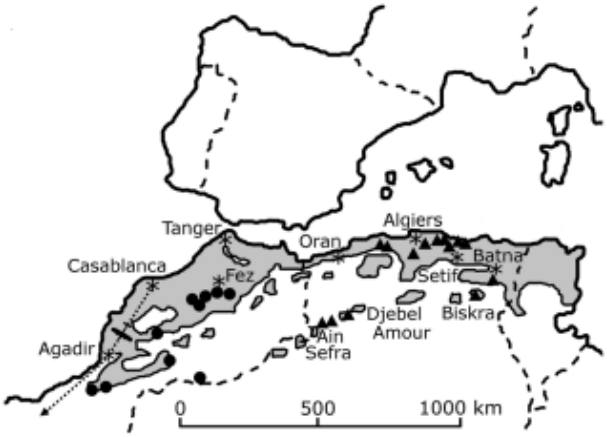


Figure 6 – Aire de distribution géographique du lion de l'Atlas entre 1900 et 1960
Source : (S. A. Black et al. 2013)

Les marqueurs circulaires indiquent les points où un spécimen a été aperçu dans l'Ouest du Maghreb, les marqueurs triangulaires indiquent les points où un spécimen a été aperçu dans l'Est du Maghreb. Les pointillés indiquent le trajet emprunté par le dernier spécimen de lion de l'Atlas répertorié.

Le lion de l'Atlas (Figure 5) se trouvait autrefois à toutes les altitudes, dans tous les types de végétation, à l'exception des grandes forêts et des déserts les plus arides (*Dorst, Dandelot, et Favarger 1976*). Son aire de répartition, auparavant

étendue de l'Afrique du Nord (Figure 6) jusqu'en Asie mineure et en Inde, est désormais plutôt en Afrique du Sud (*Dorst et Dandelot 1972*).

C'est le plus grand des félins, son pelage est court et uniforme, d'une couleur variant du presque blanc au brun ocre. Il mesure environ 1 m au garrot, pour une longueur jusqu'à 2 m 50 et un poids compris entre 120 et 200 kg. Seuls les mâles ont une crinière sur le cou et les épaules mais beaucoup de lions n'en ont pas. Leur espérance de vie moyenne est de 15 ans, même si certains lions élevés en captivité ont parfois pu atteindre plus de 25 ans (*Haltenorth et Diller 1980*).

Le lion de l'Atlas pèse en moyenne entre 50 et 300 kg mais peut attaquer des animaux jusqu'à trois fois son poids. Les lions vivent en troupes d'environ cinq femelles adultes et deux mâles adultes, accompagnés de jeunes et de subadultes[3]. Les troupes peuvent parfois atteindre une trentaine d'individus. Les lions ne sont pas territoriaux : ainsi, ils peuvent parfois parcourir jusqu'à 30 km pendant la nuit (*Dorst et Dandelot 1972*).

Les lions de l'Atlas se nourrissent principalement d'animaux herbivores, de petites antilopes aux éléphants, zèbres ou bisons, mais aussi parfois de crocodiles et de serpents. Ils peuvent chasser seuls ou en troupes, selon la taille de l'espèce ciblée (*Dorst et Dandelot 1972*).

Le lion est polygame. La période de gestation est de 105 jours et les portées vont de 2 à 6 lionceaux. Ces derniers sont sevrés à l'âge de 10 semaines mais peuvent rester près de leur mère jusqu'à leurs 18 mois (*Dorst et Dandelot 1972*).

Il est classé vulnérable selon la liste rouge mondiale des espèces menacées (*Panthera leo (Linnaeus, 1758) - Lion s. d.*).

La population des lions de l'Atlas est considérée comme éteinte à l'état sauvage depuis les années 1950 (*S. A. Black et al. 2013*). On estime cependant qu'environ 90 individus de cette espèce subsistent encore en captivité, dans des zoos du monde entier (*S. Black et al. 2010*).

Les lions de l'Atlas du Parc Zoologique de Paris sont au nombre de quatre : Aswad et Buni, âgées de 14 ans, Savannah, 16 ans, toutes trois importées du zoo de Port Lympne au Royaume-Uni, ainsi que Kibo, fils d'Aswad, un jeune mâle né le 22 avril 2015 dans les enceintes du zoo de Paris (Le lion d'Afrique s. d.).

[3] Individus ayant dépassé le stade juvénile mais ne présentant pas encore toutes les caractéristiques physiques et sociales du stade adulte (de 2 à 4 ans chez les lions).

(b) Parasites identifiés

La plupart du temps non identifiés (sauf un spécimen d'*Amblyomma cajennense*), des séropositivités à des bactéries transmises par des tiques et ciblant les hématies (*Anaplasma, Erlichia, Rickettsia*) ont été détectées chez des lions en captivité. Des infections à *Coxiella burnetii*, agent responsable de la fièvre Q, ont également été mises en évidence (*André et al. 2012; Peixoto et al. 2007; Torina et al. 2007*).

2. Chez le jaguar

(a) Présentation de l'espèce

Figure 7 - Aramis, jaguar mâle du Parc Zoologique de Paris
Source : Parc Zoologique de Paris, © François-Gilles Grandin (Les jaguars s. d.)

Jaguar
Panthera onca

Taxonomie	Ordre des carnivores Sous-ordre des féliformes Famille des félidés
Poids moyen	100 kg
Taille moyenne	Entre 1 m 10 et 1 m 70 de long
Espérance de vie moyenne	Jusqu'à 23 ans en captivité
Alimentation	Moyens à grands mammifères

La partie jaune représente les zones où le jaguar a été observé.

Figure 8 - Aire de distribution géographique du jaguar à l'état sauvage sur le continent américain
Source : (Payan (Panthera) et al. 2016)

Les jaguars (Figure 7) sont les plus grands félins du continent américain et les seuls représentants du genre *Panthera* sur ce continent.
Ils mesurent entre 1 m 10 et 1 m 70 de long pour un poids compris entre 36 et 148 kg (*CatSG: Jaguar s. d.*).

Les jaguars vivent en moyenne jusqu'à 15 ans à l'état sauvage et jusqu'à 23 ans en captivité. Un record de longévité a été établi à 28 ans en captivité (*Weigl et Jones 2005*).

Ils peuplent principalement l'Amérique Centrale et l'Amérique du Sud (Figure 8). Suite à la pression de l'Homme, leur aire de répartition a été réduite de 46 % de sa taille originale (*Tôrres et al. 2008*). Leur distribution géographique s'étendrait aujourd'hui, dans le bassin amazonien, des collines des Andes orientales jusqu'à la côte atlantique et le long de la côte ouest de l'Amérique centrale (*Jedrzejewski et al. 2018*).

Ils se nourrissent principalement de tamanoirs, de tapirs, capybaras, opossums, vaches, peccaris, agoutis et de certains oiseaux et reptiles. Ce sont des prédateurs opportunistes qui profitent d'animaux de taille moyenne à grande (*Sollmann et al. 2013)*.

Le jaguar est classé quasiment menacé selon la liste rouge des espèces menacées et des mammifères de Guyane française (*Panthera onca (Linnaeus, 1758) - Jaguar-Statuts s. d.*).

Deux jaguars sont présents sur le site du parc zoologique de Paris : Aramis, mâle noir né en 2009 au zoo de Varsovie en Pologne et Simara, blonde tachetée de noir, femelle née au zoo de Cracovie en 2013 (Les jaguars s. d.).

(b) Parasites identifiés

Une grande étude a été réalisée entre 2002 et 2004 pour évaluer l'exposition des pumas et des jaguars aux ectoparasites dans le Chaco, une région de l'Ouest du Paraguay, en Amérique du Sud. A la suite de captures dans le milieu naturel, de nombreuses espèces de puces et de tiques ont été dénombrées. Quarante-neuf puces de l'espèce *Pulex simulans* et 105 tiques du genre *Amblyomma* (adultes, larves et nymphes réunis) ont été retrouvées (*Durden et al. 2006*).

La tique bleue asiatique *(Rhipicephalus microplus)*, une tique de la famille des Ixodidés, reconnue comme l'ectoparasite du bétail le plus important à l'échelle économique dans le monde, a été détectée chez des jaguars au Brésil *(Klafke et al. 2019; Labruna et al. 2002*). Elle est également d'une importance sanitaire non négligeable car elle est peut être vectrice d'agents pathogènes responsables de l'anaplasmose, de la babésiose ou de la spirochétose bovines *(Aubry et Geale 2011; Agustín Estrada-Peña et al. 2004; Sonenshine et Roe 2013)*.

3. Chez le puma

(a) Présentation de l'espèce

Figure 9 - Un puma du Parc Zoologique de Paris

Source : Parc Zoologique de Paris, © François-Gilles Grandin (Le puma s. d.)

Puma,
ou tigre rouge
Puma concolor

Taxonomie	Ordre des carnivores Sous-ordre des féliformes Famille des félidés
Poids moyen	36 à 120 kg (mâles) et 29 à 64 kg (femelles)
Taille moyenne	1 m 02 à 1 m 54 (mâles) et 86 cm à 1 m 31 (femelles)
Espérance de vie moyenne	18 à 20 ans
Alimentation	Carnivore (ongulés et petits mammifères, oiseaux, poissons)

La partie jaune représente les zones où le puma a été observé.
La partie violette représente les zones potentielles où le puma pourrait avoir habité.

Figure 10 - Aire de distribution géographique du puma à l'état sauvage sur le continent américain

Source : (Network) et al. 2014)

Le puma (Figure 9), ou tigre rouge (*Puma concolor*), est le deuxième plus grand félidé du continent américain, après le jaguar. Son aire de répartition géographique s'étend de l'Ouest du Canada et des Etats-Unis, jusqu'à la pointe de l'Amérique du Sud, en passant par le Mexique et l'Amérique Centrale (Figure 10) (*Network) et al. 2014*).
On le trouve principalement dans des forêts de conifères, des forêts tropicales de plaine et plus généralement dans des zones où la végétation y est très dense.

Les mâles pèsent entre 36 et 120 kg et les femelles entre 29 et 64 kg, pour une longueur comprise entre 1 m 02 et 1 m 54 chez les mâles et 86 cm et 1 m 31 chez les femelles. Leur espérance de vie est autour de 20 ans en captivité *(Baker 1983; Currier 1983; Nowak 1999; Olson 1997*).

Les pumas se nourrissent principalement d'ongulés, dont des cerfs, qui représentent 60 à 80 % de leur alimentation en Amérique du Nord, mais aussi de petits mammifères, parmi lesquels des écureuils, des porcs-épics, des ratons-laveurs ou encore des castors (*Sunquist et Sunquist 2002*).

En ce qui concerne le statut des populations, le puma est classé en « préoccupation mineure » selon la liste rouge mondiale des espèces menacées (*Network) et al. 2014*).

La population de pumas du Parc Zoologique de Paris est constituée de Maceo, le mâle, né dans son milieu naturel et recueilli dans le cadre d'un partenariat avec une ONG, et Kali et Maeli, les femelles (Le puma s. d.).

(b) Parasites identifiés

Amblyomma cajennense, impliquée dans la transmission de la rickettsiose (*Guedes et al. 2005*), a été retrouvée à plusieurs reprises chez le puma (*Durden et al. 2006; Labruna et al. 2002*).

D'autres espèces du genre *Amblyomma* et des spécimens de *Pulex simulans* ont, comme le jaguar, été retrouvés chez le puma au Paraguay (Tableau I).

Tableau I – Ectoparasites retrouvés sur des pumas et des jaguars dans le Chaco, au Paraguay entre 2002 et 2004

Source : (Durden et al. 2006)

Espèce d'ectoparasite	**Pumas (n = 7)**			**Jaguars (n = 7)**		
	Prévalence[a]	Intensité moyenne[a]	Total[b]	Prévalence[a]	Intensité moyenne[a]	Total[b]
Puce ***Pulex simulans***	100	4,3	17M, 13F	43	16,3	13M, 36F
Tiques ***Amblyomma cajennense***	86	36,7	3F, 30N, 187L	57	18,0	1M, 1F, 16N, 54L
Amblyomma parvum	100	6,7	34M, 13F	57	5,0	8M, 12F
Amblyomma tigrinum	57	8,0	1F, 31L	29	5,0	1M, 6F, 3L
Amblyomma triste	14	1,0	1M	14	3,0	3M

[a] Prévalence : pourcentage d'hôtes infestés ; Intensité moyenne : moyenne par hôte infesté selon (*Bush et al. 1997*)
[b] N : nymphes, L : larves, M : adultes mâles, F : adultes femelles

4. Chez le fossa

(a) Présentation de l'espèce

Figure 11 - Un fossa du Parc Zoologique de Paris

Source : Parc Zoologique de Paris, © François-Gilles Grandin (Le fossa s. d.)

Fossa
Cryptoprocta ferox

Taxonomie	Ordre des carnivores Sous-ordre des féliformes Famille des eupléridés
Poids moyen	7 à 12 kg
Taille moyenne	61 à 80 cm de long
Espérance de vie moyenne	Jusqu'à 20 ans en captivité
Alimentation	Carnivore (vertébrés terrestres)

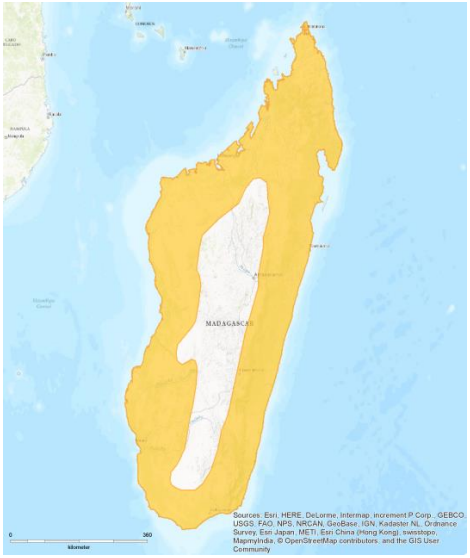


Figure 12 - Aire de distribution géographique du fossa à l'état sauvage sur l'île de Madagascar

Source : (Cryptoprocta ferox (Fosa) s. d.)

Les fossas (Figure 11) sont les plus gros carnivores de l'île de Madagascar (Figure 12) (*Nowak 1999*). Ils se nourrissent principalement de lémuriens, de rongeurs et de reptiles.

La partie jaune représente les zones où le fossa a été observé.

Le fossa est solitaire et nocturne pendant la majeure partie de l'année. Son activité est plus importante en journée pendant la période de reproduction, entre octobre et décembre (*Farris et al. 2015*).

Il est classé vulnérable selon la liste rouge des espèces menacées (*Cryptoprocta ferox (Fosa) s. d.*).

Le Parc Zoologique de Paris compte deux fossas : Zanahari, la femelle, et Sambara, le mâle, nés en 2017 et provenant respectivement d'un zoo du Royaume-Uni et d'un zoo d'Allemagne (Le fossa s. d.).

(b) Parasites identifiés

Aucune étude n'a été menée pour étudier la prévalence des infestations parasitaires par des puces et par des tiques chez le fossa de Madagascar.

5. Chez le suricate

(a) Présentation de l'espèce

Figure 13 - Suricates du Parc Zoologique de Paris

Source : Parc Zoologique de Paris, © François-Gilles Grandin (Le suricate s. d.)

Suricate
Suricata suricatta

Taxonomie	Ordre des carnivores Sous-ordre des féliformes Famille des herpestidés
Poids moyen	776 g
Taille moyenne	42,5 à 60 cm de long
Espérance de vie moyenne	Environ 12 ans en captivité
Alimentation	Carnivore (insectivore)

Figure 14 - Aire de distribution géographique du suricate à l'état sauvage

Source : (Group) et Jordan 2015)

La partie marron représente les zones où le suricate a été observé.

Les suricates (Figure 13) se répartissent principalement au Sud de l'Afrique, dans une zone s'étendant de la Namibie au Nord à l'Afrique du Sud (Figure 14). Ils préfèrent les paysages arides, découverts, souvent pierreux à végétation ligneuse basse ou éparse (*Dorst, Dandelot, et Favarger 1976*).

Ils présentent un corps arrondi, gris ocre, une tête arrondie et un museau tubulaire. L'animal se tient souvent debout sur ses pattes postérieures (*Dorst et Dandelot 1972*).

Ils mesurent entre 24,5 et 31 cm de long, pour un poids compris entre 620 et 970 g. Ils vivent environ 10 ans, mais peuvent atteindre 15 à 20 ans en captivité (*van Staaden 1994*).

Ce sont des individus très sociables, qui évoluent le plus souvent dans des terriers, dans des colonies qui peuvent atteindre 50 individus (*Bateman et al. 2015*).

L'alimentation des suricates est essentiellement composée d'insectes, de vers, d'araignées et de millipèdes capturés sur le sol ou enfouis ; ils peuvent parfois se nourrir de reptiles, escargots et racines bulbeuses (*Dorst et Dandelot 1972*).

La période de gestation est d'environ 11 semaines à l'issue de laquelle la femelle donne naissance à deux à quatre jeunes (*Dorst et Dandelot 1972*).

Selon la classification de l'UICN, le statut des populations est « préoccupation mineure » (*Group) et Jordan 2015*).

Le Parc zoologique de Paris compte un clan de suricates, ainsi que deux mâles exclus du clan et en attente de transfert : Chobe et Garoa, inclus dans l'étude.

(b) Parasites identifiés

Une étude réalisée sur 46 suricates vivant dans le désert de Kalahari en Afrique du Sud a permis de mettre en évidence chez 91 % d'entre eux des infections à *Babesia* sp. et/ou à *Cytauxzoon* sp., des parasites transmis par les tiques, bien que l'identification précise de ces vecteurs dans l'étude reste inconnue *(Leclaire, Menard, et Berry 2015*).

Des espèces de puces ont été décrites sur des suricates d'Afrique du Sud, en particulier *Echidnophaga bradyta,* mais aussi plus récemment *Echidnophaga suricatta*, qui infeste spécifiquement le suricate *(Hastriter 2000; Horak, Beaucournu, et Braack 2004*).

6. Chez le loup ibérique

(a) Présentation de l'espèce

Figure 15 - Un loup ibérique du Parc Zoologique de Paris

Source : Parc Zoologique de Paris, © François-Gilles Grandin (Le loup ibérique s. d.)

Loup ibérique
Canis lupus signatus

Taxonomie	Ordre des carnivores Sous-ordre des caniformes Famille des canidés
Poids moyen	Entre 30 et 40 kg
Taille moyenne	70 à 80 cm au garrot, environ 1 m de long
Espérance de vie moyenne	Jusqu'à 20 ans en captivité
Alimentation	Ongulés domestiques (chèvres, moutons, vaches) et sauvages (sangliers, chevreuil, cerf)

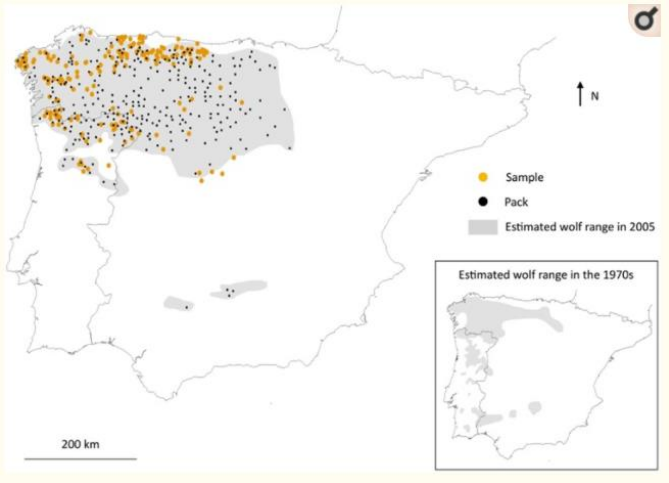


Figure 16 - Aire de distribution géographique du loup ibérique à l'état sauvage

Source : (Silva et al. 2018)

Le loup ibérique (*Canis lupus signatus*) (Figure 15, Figure 16) est un carnivore de la famille des canidés. Il s'agit d'une sous-espèce du loup gris (*Canis lupus Linnaeus, 1758 - Loup gris, Loup s. d.*).

Il se nourrit principalement d'animaux de bétail : chèvres, moutons et vaches, et d'animaux sauvages (sangliers, chevreuil, cerf, lapin) (*Torres et al. 2015*).

Depuis 2004, le loup ibérique est classé en « préoccupation mineure » sur la liste rouge de l'UICN. En France et en Espagne, du fait de la chasse et de la destruction de son habitat, il est classé « vulnérable ».

La population du loup ibérique au Parc Zoologique de Paris est composée d'Enrique et de Diego, deux mâles nés respectivement en 2011 et en 2012 (Le loup ibérique s. d.).

(b) Parasites identifiés

Pulex irritans a été décrite comme espèce de puce présente chez quelques loups dans une étude réalisée sur des animaux sauvages en Espagne en 2011 *(Domínguez-Peñafiel et al. 2011)*.

Les loups sont particulièrement exposés aux agents responsables de la maladie de Lyme en Europe, aux anaplasmoses, aux ehrlichioses et aux rickettsioses *(Arrais et al. 2021; Hodžić et al. 2020; Jara, Wydeven, et Samuel 2016).*

De la même manière, des ectoparasites ont été observés sur deux loups du Parc Zoologique de Paris avant le lancement de l'étude.

Figure 17 - Un chien des buissons du Parc Zoologique de Paris
Source : Parc Zoologique de Paris, © François-Gilles Grandin (Le chien des buissons s. d.)

Chien des buissons
Speothos venaticus

Taxonomie	Ordre des carnivores Sous-ordre des caniformes Famille des canidés
Poids moyen	5 à 7 kg
Taille moyenne	57,5 à 75 cm de long
Espérance de vie moyenne	Environ 10 ans en captivité
Alimentation	Principalement des rongeurs

Figure 18 - Aire de distribution géographique du chien des buissons à l'état sauvage

Source : (Louis), Fernanda Michalski (Instituto Pró-Carnívoros, et University) 2011)

La partie marron représente les zones où le chien des buissons a été observé.

Le chien des buissons (*Speothos venaticus*) (Figure 17) est un carnivore de la famille des canidés. Il s'agit d'une espèce tropicale dont l'aire de distribution géographique s'étend du Panama au nord de l'Argentine (Figure 18) (*Hall 1981*).

Il peuple les forêts et la savane humide. Il est semi-aquatique et principalement diurne. Sa taille varie de 57,5 à 75 cm de long pour une hauteur au garrot d'environ 30 cm (*Nowak 1999*).

Il se nourrit essentiellement de rongeurs mais son alimentation varie selon la région où il se situe. En effet, les tatous et les agoutis[4] constituent la base de son alimentation dans le Pantanal au Brésil, alors qu'il se nourrit plus d'agoutis, de pacas[5] et de fruits au Paraguay *(Lima, Jorge, et Dalponte 2009; Zuercher, Gipson, et Carrillo 2005*).

Le chien des buissons est classé quasi menacé selon la liste rouge des espèces menacées et en préoccupation mineure selon la liste rouge des mammifères de Guyane française (2017) (*Speothos venaticus (Lund, 1842) s. d.*).

(b) Parasites identifiés

Un dénombrement des espèces de tiques présentes chez des carnivores sauvages au Brésil a été réalisé entre 1998 et 2004 et a révélé que le chien des buissons (*Speothos venaticus*) portait *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma ovale* et *Amblyomma* sp. (*Labruna et al. 2005*).

[4] Rongeurs d'Amérique tropicale et subtropicale
[5] *Idem*

Figure 19 - Un coati roux du Parc Zoologique de Paris
Source : Parc Zoologique de Paris, © François-Gilles Grandin (Le coati roux | Parc Zoologique de Paris s. d.)

Coati roux
Nasua nasua

Taxonomie	Ordre des carnivores Sous-ordre des caniformes Famille des procyonidés
Poids moyen	3 à 6 kg
Taille moyenne	Environ 1 m de long
Espérance de vie moyenne	Jusqu'à 17 ans en captivité
Alimentation	Principalement omnivore (invertébrés, fruits)

Le coati roux (*Nasua nasua*) (Figure 19) est un carnivore de la famille des procyonidés, parmi laquelle se trouvent également les ratons-laveurs (*ITIS - Report: Procyonidae s. d.*).

Figure 20 - Aire de distribution géographique du coati roux à l'état sauvage
Source : (Division of Mammals et Emmons 2015)

La partie marron représente les zones où le coati roux a été observé.

On le trouve principalement dans le bassin amazonien, dans une zone qui s'étend du Nord-Est du Venezuela au Sud du Brésil (Figure 20).

Il mange des fruits et des animaux invertébrés, comme des crabes, des serpents, des araignées ou des coléoptères (*Gompper et Decker 1998*).

Son statut de conservation est « préoccupation mineure » selon la liste rouge des espèces menacées *(Kristofer Helgen (Division of Mammals et Emmons 2015*). En Europe, le coati roux est considéré comme une espèce exotique envahissante[6] (*Commission Implementing Regulation (EU) 2016/1141 of 13 July 2016 adopting a list of invasive alien species of Union concern pursuant to Regulation (EU) No 1143/2014 of the European Parliament and of the Council 2016*).

(b) Parasites identifiés

Au Paraguay, on a retrouvé sur un individu examiné durant une campagne de recherche de parasites sur des mammifères sauvages entre 1981 et 1982, quarante-vingt-dix-sept tiques du genre *Amblyomma* (*Whitaker et Abrell 1987*).
De la même manière, des individus du genre *Amblyomma* (*Amblyomma brasiliense*, *A. ovale*, *A. rotundatum*) ont été retrouvés chez des coatis roux au Brésil *(Labruna et al. 2005*).
Au Brésil également, les sous-espèces de puces *Rhopalopsyllus lutzi lutzi* et *Ctenocephalides felis felis* ont été décrites (*Estevam et al. 2020*).

9. Chez la loutre d'Europe

(a) Présentation de l'espèce

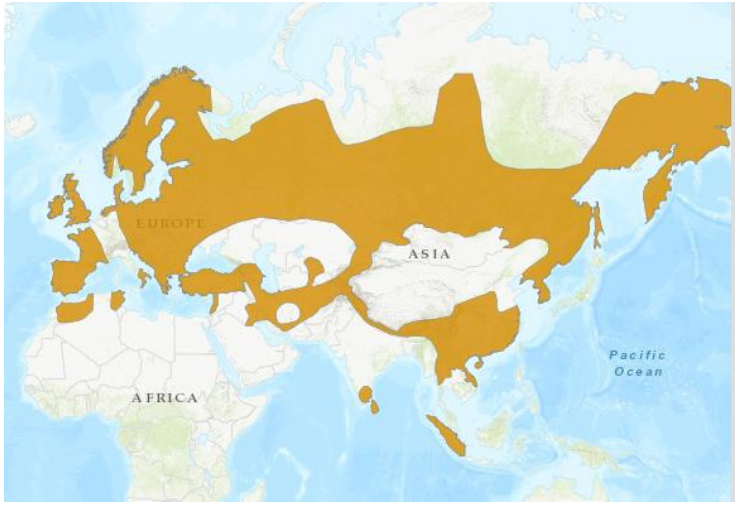
Figure 21 - Dieko, loutre d'Europe du Parc Zoologique de Paris

Source : Parc Zoologique de Paris, © François-Gilles Grandin (*La loutre d'Europe s. d.*)

Loutre d'Europe,
ou loutre commune
Lutra lutra

Taxonomie	Ordre des carnivores Sous-ordre des caniformes Famille des mustélidés
Poids moyen	6 à 11 kg
Taille moyenne	1 m 60 de long, 30 cm au garrot
Espérance de vie moyenne	Jusqu'à 18,2 ans en captivité
Alimentation	Carnivore (poissons)

[6] La Convention sur la diversité biologique définit une espèce exotique envahissante comme une espèce dont « l'introduction et/ou la propagation menace la diversité biologique ».



La partie marron représente les zones où la loutre d'Europe a été observée.

Figure 22 - Aire de distribution géographique de la loutre d'Europe à l'état sauvage

Source : (*Roos et al. 2014*)

La loutre d'Europe (*Lutra lutra*) (Figure 21), appartenant à la famille des mustélidés, possède une silhouette hydrodynamique, avec des pattes courtes palmées, une queue longue et puissante et un museau large, lui conférant une bonne aptitude à la nage (*Aulagnier et al. 2010*).

Son pelage est très épais et imperméable, composé d'un duvet très serré, fin et de couleur claire et de longs poils (également appelés jarres) (*Hainard 1989*).

Elle couvre une très grande zone géographique qui s'étend depuis l'Afrique du Nord jusqu'au Japon et englobe ainsi trois continents : l'Afrique, l'Europe et l'Asie (Figure 22) (*Roos et al. 2014*).

Elle peut mesurer jusqu'à 1 m 60 de long pour une hauteur au garrot de 30 cm et un poids entre 6 et 11 kg, allant jusqu'à 16 kg (*Hainard 1989*). Elle peut vivre jusqu'à 18,2 ans en captivité (*Weigl et Jones 2005*).

On la trouve à l'état sauvage dans des rivières, estuaires, marais, lacs, étangs et bords de mer, sur de nombreuses îles atlantiques (*Aulagnier et al. 2010*).

Il s'agit d'un carnivore crépusculaire et nocturne, passant sa journée dans une catiche, une sorte de tanière dont l'entrée très étroite se situe le plus souvent sous l'eau. La loutre d'Europe est territoriale et solitaire. Elle est principalement ichytophage, c'est-à-dire qu'elle se nourrit essentiellement de poisson mais peut également consommer des rongeurs, des oiseaux d'eau, des amphibiens et des écrevisses (*Aulagnier et al. 2010*). La Loutre d'Europe marque son territoire en y déposant des urines et des épreintes (nom donné aux fèces de la loutre) le long des rives maritimes (*Kuhn, Jacques, et Guillaume 2011*).

Elle est aujourd'hui quasiment menacée selon les listes rouges mondiales et européennes des espèces menacées (*Lutra lutra (Linnaeus, 1758) - Loutre d'Europe, Loutre commune, Loutre s. d.*).

La population de loutres d'Europe du Parc zoologique de Paris est composée de Becca, âgée de 12 ans et née en captivité au zoo d'Edimbourg en Ecosse, ainsi que de Dieko, un mâle âgé de huit ans, provenant du Gaïa Park aux Pays-Bas (*La loutre d'Europe s. d.*).

(b) Parasites identifiés

Trois principales espèces de tiques du genre *Ixodes* ont pu être retrouvées chez une population de 48 loutres d'Europe sur les 541 qui ont été étudiées pendant une période de 21 ans entre 1990 et 2010, soit une prévalence d'environ 8,8 %. Il s'agissait d'*Ixodes hexagonus* (la plus fréquente chez les loutres d'Europe), *Ixodes canisuga* et *Ixodes ricinus* (*Christian 2012; Sherrard-Smith, Chadwick, et Cable 2012*).

c. Rôle des ectoparasites dans la transmission de maladies vectorielles

i. Inventaire des agents pathogènes transmis par les puces et les tiques

L'augmentation de l'occurrence des parasites externes en parc zoologique conduit à se préoccuper davantage de ces problématiques. Le risque zoonotique n'y est pas négligeable, la proximité de ces espèces captives avec l'Homme (*via* les soigneurs animaliers, le personnel technique, les vétérinaires ou les visiteurs) y étant plus importante qu'en faune sauvage non captive.
Les puces et les tiques sont en effet vectrices de nombreuses zoonoses plus ou moins graves, c'est-à-dire des maladies ou infections transmissibles entre les animaux vertébrés et l'Homme (Tableau II).

Elles transmettent également des bactéries, appartenant principalement aux genre *Rickettsia*, *Ehrlichia* ou *Borrelia* mais d'autres familles de bactéries comme *Francisella tularensis* (responsable de la tularémie) ou encore *Coxiella burnetii*, responsable de la fièvre Q, sont véhiculés par des tiques. Des virus du genre *Flavivirus* sont également impliqués (*Betancur H, Betancourt E, et Giraldo R 2015; Gayle et Ringdahl 2001*).
Le nombre de ces affections a considérablement augmenté au cours de ces 30 dernières années (*Betancur H, Betancourt E, et Giraldo R 2015*). A titre d'exemple, on peut citer la borréliose de Lyme en Amérique du Nord et en Europe ou encore le virus de la méningoencéphalite à tiques, transmis par certaines espèces de tiques comme *Ixodes ricinus* ou *Ixodes hexagonus.*

Tableau II – Agents pathogènes transmis par les tiques rencontrés chez les espèces concernées par l'étude

D'après (Betancur H, Betancourt E, et Giraldo R 2015)

Agent pathogène rencontré	Prévalence de la maladie	Vecteurs associés	Espèce concernée
Babesia spp.	6/13 (46,1 %)	n/a	Jaguar (*Panthera onca*)
	2/18 (11,1 %)	n/a	Puma (*Puma concolor*)
	8/27 (29,6 %)	n/a	Chien des buissons (*Speothos venaticus*)
Cytauxzoon felis	2/9 (22,2 %)	n/a	Puma (*Puma concolor*)
	1/9 (11,1 %)	n/a	Jaguar (*Panthera onca*)
	1/1 (100 %)	*Amblyomma cajennense*	Lion (*Panthera leo*)
Anaplasma phagocytophilum	1/10 (10 %)	n/a	Lion (*Panthera leo*)
	1/27 (3,7 %)	n/a	Chien des buissons (*Speothos venaticus*)
Ehrlichia canis	2/9 (2,2 %)	n/a	Jaguar (*Panthera onca*)
	3/17 (17,6 %)	n/a	Puma (*Puma concolor*)
	2/12 (16,7 %)	n/a	Lion (*Panthera leo*)
	5/27 (18,5 %)	n/a	Chien des buissons (*Speothos venaticus*)
	13/17 (76,5 %)	*Rhipicephalus sanguineus*	Loup de l'Est (*Canis lupus*)
Ehrlichia chaffeensis	2/8 (25 %)	n/a	Puma (*Puma concolor*)
	1/12 (8,3 %)	n/a	Lion (*Panthera leo*)
	1/3 (33,3 %)	n/a	Loup gris (*Canis lupus*)
Rickettsia spp.	2/10 (20 %)	n/a	Lion (*Panthera leo*)
Coxiella burnetii* et *Anaplasma phagocytophilum	1/1 (100 %)	n/a	Lion (*Panthera leo*)

Les puces, bien que moins majoritaires dans leur implication dans des maladies vectorielles, transmettent des agents pathogènes responsables d'affections graves chez l'Homme.
Yersinia pestis, responsable de la peste, en est l'exemple le plus marquant.
On trouve également d'autres agents, comme des rickettsies (*Rickettsia typhi*, *Rickettsia prowazekii*), mais aussi parfois *Bartonella henselae (Bitam et al. 2010b).*
Les puces peuvent également héberger d'autres endoparasites tels que des helminthes (*Dipylidium caninum* et *Hymenolepis diminuta)* chez le chien et le rat *(Bitam et al. 2010b).*

ii. Les maladies vectorisées par les ectoparasites, des zoonoses graves

Il a été démontré que les petits mammifères et les tiques en zoo peuvent jouer respectivement le rôle de réservoirs et de vecteurs dans la transmission de maladies zoonotiques et donc être un danger potentiel pour les personnes à fort risque d'exposition. Des anticorps contre certains agents pathogènes (*Coxiella burnetii*, responsable de la fièvre Q, *Borrelia burgdorferi*, agent de la maladie de Lyme ou encore des leptospires) ont été détectés chez de petits mammifères sauvages dans une étude réalisée dans un zoo de République tchèque (*Pittermannová et al. 2021*).

Pulex irritans, une espèce de puce retrouvée chez de nombreux mammifères sauvages, dont certains évoqués plus haut, est un vecteur de nombreuses zoonoses graves : on peut par exemple citer la peste (*Yersinia pestis*), le typhus murin (*Rickettsia typhi*) ou encore la fièvre maculée transmise par les puces (*Rickettsia felis*) (*Rakotonanahary et al. 2017; Ratovonjato et al. 2014*).

Les flavivirus transmis par les tiques sont responsables chez l'Homme de fièvres et d'encéphalites graves. L'encéphalite à tiques par exemple, ou méningo-encéphalite verno-estivale (MEVE) peut provoquer des hémiparésies, des hémiplégies et des crises épileptiformes chez les individus atteints de la forme méningo-encéphalique, qui est mortelle dans 30 % des cas. Des atteintes nerveuses et musculaires ainsi qu'une détérioration du statut mental sont décelés dans certaines formes chroniques (*Gritsun, Lashkevich, et Gould 2003*).

Même s'il existe actuellement de nombreuses thérapeutiques possibles pour combattre ces affections (antibiothérapies, traitements antiviraux), il convient de rester vigilant et limiter l'apparition de nouveaux cas en renforçant les mesures de prévention disponibles, en particulier la lutte contre les parasites concernés.

II. Une nouvelle famille d'antiparasitaires externes, les isoxazolines

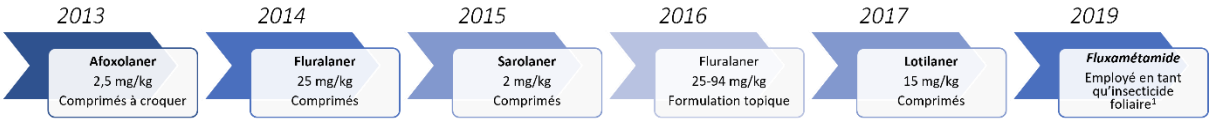


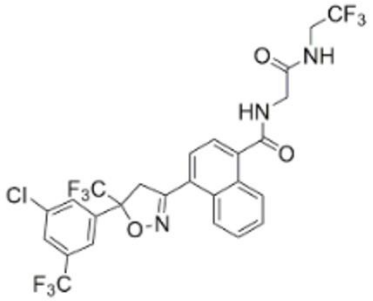
Figure 23 – Développement des isoxazolines[7]

D'après (Gonçalves et al. 2021)

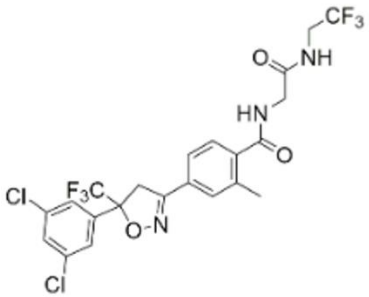
a. *Présentation générale des isoxazolines*

Les isoxazolines (Figure 23) sont des composés organiques hétérocycliques à cinq chaînons (Figure 24).
Ce sont des antagonistes non-compétitifs des récepteurs du neurotransmetteur acide gamma-aminobutyrique (GABA). Ils sont plus sélectifs avec les récepteurs GABA des insectes et des acariens que ceux des mammifères. Ils agissent sur les canaux chlorure ligand-dépendants dans les cellules nerveuses et musculaires, empêchant la transmission du message nerveux au niveau des synapses, provoquant alors une paralysie et la mort du parasite ciblé *(Weber et Selzer 2016*).

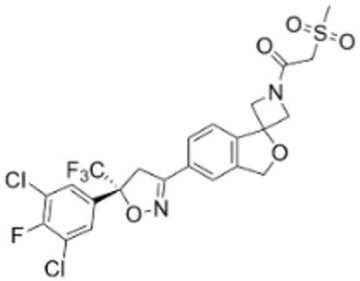
[7] Un insecticide foliaire est un insecticide qui se pulvérise directement sur les feuilles des végétaux pour lutter contre certains nuisibles (comme les pucerons par exemple).



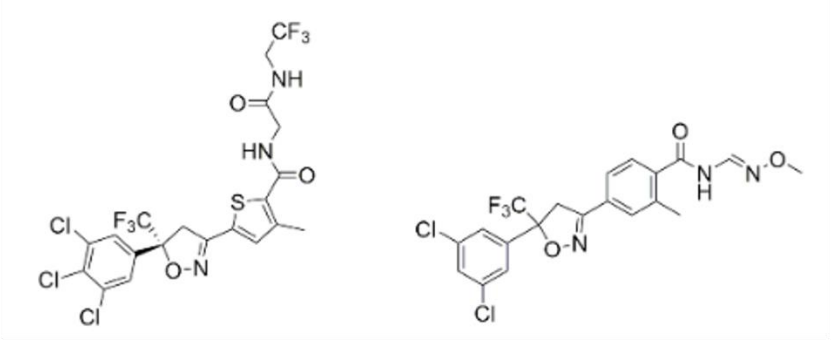
Afoxolaner



Fluralaner



Sarolaner



Lotilaner

Fluxamétamide

Figure 24 - Formules topologiques des insecticides dérivés d'isoxazolines

On trouve actuellement quatre dérivés d'isoxazolines approuvés en tant que médicaments vétérinaires pour lutter contre les ectoparasites (Tableau III) :

- L'afoxolaner, actif, chez le chien, contre les puces adultes, certaines espèces de tiques et quelques acariens de gale ;
- Le sarolaner, actif, chez le chien et le chat, contre les puces adultes, certaines espèces de tiques et quelques acariens de gale ;
- Le fluralaner, actif, chez le chien et le chat, contre les puces adultes, certaines espèces de tiques, quelques acariens de gale (sarcoptique, otodectique et démodécique) ;
- Le lotilaner, actif, chez le chien et le chat, contre les puces adultes et certaines espèces de tiques.

Tableau III - Principales informations cliniques des dérivés d'isoxazolines utilisés en médecine vétérinaire

	Afoxolaner[1]	**Sarolaner[2]**	**Fluralaner[3]**	**Lotilaner[4]**
Nom commercial	NEXGARD® *NEXGARD SPECTRA®*	SIMPARICA® *STRONGHOLD PLUS®*	BRAVECTO®	CREDELIO®
Formes galéniques disponibles	Comprimés à croquer pour chiens	Comprimés à croquer pour chiens Solution *spot-on* pour chats	Comprimés à croquer pour chiens Solution *spot-on* pour chiens et chats	Comprimés à croquer pour chiens et chats
Posologies et voies d'administration	**2,7-7 mg/kg PO** *2,50–5,36 mg/kg d'afoxolaner PO (contient aussi de la milbémycine oxime)*	**2-4 mg/kg PO** *Min. 1 mg/kg sarolaner par spot-on (contient aussi de la sélamectine)*	**25-56 mg/kg PO ou *spot-on*** (chiens) **40-94 mg/kg *spot-on*** (chats)	**20-43 mg/kg PO**
Spectre d'action	Efficace contre : • **les puces** (*Ctenocephalides felis* et *C. canis*) • **les tiques** (*Dermacentor reticulatus, Ixodes ricinus, Ixodes hexagonus, Rhipicephalus sanguineus*) • **les acariens de gale** (*Demodex canis* et *Sarcoptes scabiei var. canis*)	Efficace contre : • **les puces** (*Ctenocephalides felis* et *C. canis*) • **les tiques** (*Dermacentor reticulatus, Ixodes ricinus, Ixodes hexagonus, Rhipicephalus sanguineus)* • **les acariens de gale** (*Sarcoptes scabiei, Otodectes cynotis* et *Demodex canis*)	Efficace contre : • **les puces** (*Ctenocephalides felis*) • **les tiques** (*Dermacentor reticulatus, Ixodes ricinus, Dermacentor variabilis, Rhipicephalus sanguineus)* • **les acariens de gale** (*Sarcoptes scabiei var. canis* et *Demodex canis*)	Efficace contre : • **les puces** (*Ctenocephalides felis* et *C. canis*) • **les tiques** (*Dermacentor reticulatus, Ixodes ricinus, Ixodes hexagonus, Rhipicephalus sanguineus)*

b. Le fluralaner, une nouvelle molécule

i. Présentation générale du fluralaner

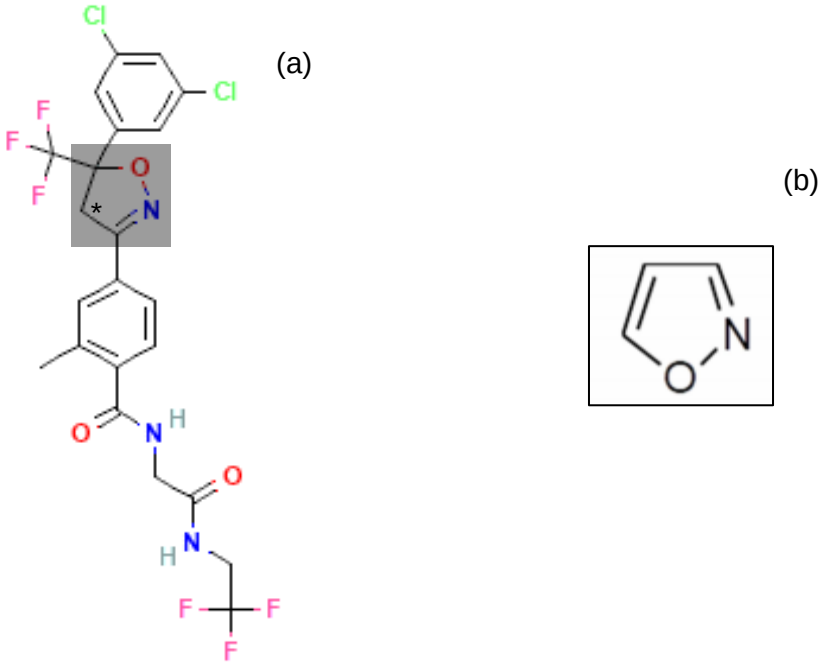


Figure 25 - Formule topologique du fluralaner

D'après (PubChem s. d.)
(a) Formule topologique du fluralaner (en grisé, la structure isoxazole, l'astérisque indique la présence d'un atome de carbone asymétrique)
(b) Un noyau isoxazole

Le fluralaner (Figure 25) est un composé organique appartenant à la famille des isoxazolines. Il comporte, au sein de sa structure chimique, un noyau isoxazole (Figure 25) caractéristique, possédant lui-même un atome de carbone asymétrique. Ce dernier confère à cette molécule une chiralité, c'est-à-dire qu'elle n'est pas superposable à son image dans un miroir plan. Elle existe alors sous deux formes, appelées énantiomères (le *(R)*-fluralaner et le *(S)*-fluralaner, du fait qu'elles dévient respectivement la lumière polarisée vers la droite – *rectus* – et vers la gauche – *sinister*). Ces deux formes possèdent des propriétés pharmacologiques différentes. Dans le cas du fluralaner, la forme active de la molécule est la configuration (*S)* (*Kong et al. 2017*). Il convient la plupart du temps d'associer les deux formes énantiomères en ce qui est appelé un mélange racémique pour limiter les effets secondaires de la deuxième forme inactive. Ainsi, par exemple, le BRAVECTO® est composé d'un mélange de *(R)*-fluralaner et de *(S)*-fluralaner.

Il s'agit d'une molécule électriquement neutre, non ionisable. Elle peut établir 10 à 15 liaisons hydrogène, lui permettant ainsi d'interagir de façon réversible avec des protéines.

Le Tableau IV ci-dessous présente les principales propriétés physico-chimiques du fluralaner.

Tableau IV – Principales propriétés physico-chimiques du fluralaner

D'après (PubChem s. d.)

FLURALANER

4-[5-(3,5-dichlorophenyl)-5-(trifluoromethyl)-4*H*-1,2-oxazol-3-yl]-2-methyl-*N*-[2-oxo-2-(2,2,2-trifluoroethylamino)ethyl]benzamide

Formule brute	**$C_{22}H_{17}Cl_2F_6N_3O_3$**
Masse molaire	**≈ 556,3 g/mol**
Log $P_{octanol/eau}$	**4,5** (*selon MSD*) **5,35** (Kilp et al. 2014a) **5,6** (*PubChem s. d.*)
Nombre de sites donneurs de liaisons hydrogène	**2**
Nombre de sites donneurs de liaisons hydrogène	**10**
Nombre de liaisons à libre rotation	**6**
Surface polaire[8]	**79.8 Å²**

ii. Pharmacodynamie du fluralaner

La pharmacodynamie du fluralaner, soit l'action qu'il exerce sur l'organisme, est similaire à celle des autres molécules de la famille des isoxazolines.

Le fluralaner agit en bloquant les canaux chlorure ligand-dépendants des insectes (Figure 26). Une étude réalisée en 2009 (*Ozoe et al. 2010*) a montré l'efficacité du fluralaner dans l'inhibition de la liaison du [^{3}H]4'-ethynyl-4-*n*-propylbicycloorthobenzoate (EBOB) – un bloquant de la chaîne de récepteurs acides gamma-aminobutyriques (GABA) – aux synapses neuro-musculaires extraites de têtes de mouches (*Musca domestica*), de puces (*Ctenocephalides felis*) et de tiques (*Dermacentor variabilis*).

La concentration inhibitrice médiane pour le fluralaner, c'est-à-dire l'efficacité d'un produit à inhiber la fonction biologique d'un individu, était de 455 pM pour les mouches contre > 10 µM chez les rats.

Quant à la CL_{95} du fluralaner, c'est-à-dire la quantité de matière nécessaire de fluralaner causant la mort d'un groupe de 95 % d'animaux de l'étude, elle était de 21 ± 5 ng/cm² chez les puces et 1,3 ± 0,7 ng/cm² chez les tiques, soit une activité parasitaire environ 4,8 fois plus puissante chez les puces et 1,3 fois plus puissante chez les tiques que le fipronil (*Ozoe et al. 2010*).

[8] Dans le système international, 1 Å = 0,1 nm

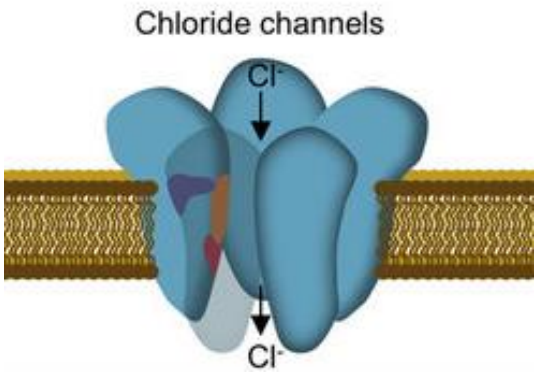


Figure 26 - Site de fixation du fluralaner sur les canaux chlorure du récepteur GABA

Le site de fixation est représenté en orange sur le schéma.
La zone violette représente, à titre comparatif, le site de fixation de l'ivermectine et la zone rouge le site de fixation de la dieldrine (un ancien insecticide organochloré).

iii. Pharmacocinétique du fluralaner

1. Rappel sur des notions importantes de pharmacocinétique (d'après *Benet et Zia-Amirhosseini 1995*)

La pharmacocinétique est l'étude de l'action de l'organisme sur le principe actif d'un médicament.
Elle comprend en particulier la cinétique :

- de l'absorption du principe actif ;
- de sa distribution ;
- de son métabolisme ;
- et de son élimination.

Elle dépend notamment de la forme galénique du médicament mais aussi de sa voie d'administration (Figure 27).

La concentration en principe actif qui arrive dans la circulation générale est plus faible que celle arrivant dans la veine porte du fait d'un effet de premier passage hépatique. En effet, la fraction du principe actif absorbée par les intestins rencontre un premier organe, le foie, dans lequel elle va être métabolisée (*Herman et Santos 2021*).

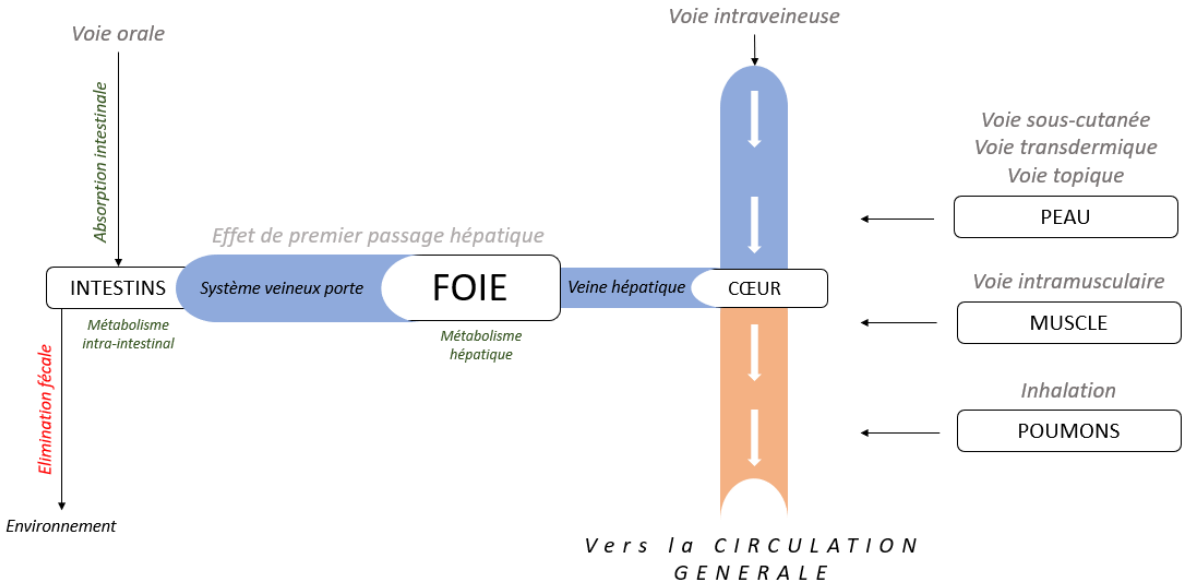


Figure 27 - Schématisation du trajet d'un médicament dans l'organisme selon la voie d'administration

De nombreux paramètres sont étudiés pour caractériser ces cinétiques et sont rassemblés dans le Tableau V ci-dessous.

Tableau V - Présentation des principaux paramètres pharmacocinétiques d'un médicament

Paramètres	Symbole et unité dans le SI	Définition
AUC (***Area Under the Curve = aire sous la courbe***)	$AUC_{(0\rightarrow t)} = \int_0^t C(t)dt$	Exposition plasmatique au principe actif (entre le moment de l'administration et un temps *t*)
Concentration maximale	C_{max} (g/L)	Concentration plasmatique maximale atteinte après l'administration d'un principe actif
Temps maximal	t_{max} (secondes)	Temps nécessaire après administration pour lequel on atteint la concentration plasmatique maximale
Biodisponibilité	F (%)	Fraction de la dose administrée qui arrive dans la circulation générale
MRT (***Mean Residence Time = temps de résidence moyen***)	MRT (secondes)	Temps moyen de résidence des molécules du principe actif dans le sang
Clairance plasmatique totale	Cl (L/kg/min)	Volume plasmatique épuré du principe actif par unité de temps
Volume de distribution apparent	V_z (L/kg)	Volume fictif théorique dans lequel devrait se distribuer le médicament pour être à l'équilibre à la même concentration que dans le plasma
Temps de demi-vie	$t_{1/2}$ (secondes)	Temps nécessaire à la diminution de 50 % de la concentration plasmatique

Quatre études ont été réalisées pour étudier qualitativement et quantitativement le devenir du fluralaner dans l'organisme d'animaux domestiques suite à son administration, en particulier chez le chien et le chat.
Elles se basent sur les différentes voies d'administration du principe actif, la voie orale (PO), la voie intra-veineuse (IV) et la voie topique (*spot-on*).
L'ensemble des résultats des études sont détaillés dans les paragraphes ci-dessous.

2. Etude pharmacocinétique du fluralaner suite à une administration par voie intra-veineuse chez le chien (d'après *Kilp et al. 2014*)

En 2014, l'équipe de Susanne Kilp a lancé une étude permettant d'étudier la pharmacocinétique du fluralaner (BRAVECTO®) chez 24 chiens de race beagle.
Une solution liquide concentrée à 2,5 mg/mL de fluralaner dans du Polyethylene glycol (PEG) 200 (90 % en volume) a été reconstituée et injectée à 6 beagles par voie intraveineuse lente (CRI sur 5 minutes), 3 mâles et 3 femelles, âgés de 1 à 2 ans et de masse corporelle comprise entre 7,8 et 11,4 kg.
Des prises de sang ont ensuite été réalisées à la veine jugulaire de chaque animal sur une durée de 112 jours et le sang prélevé a été collecté dans des tubes citratés, centrifugé et conservé à température négative jusqu'à analyse.
Le plasma sanguin a été extrait par précipitation des protéines dans de l'acétonitrile et dilué dans l'acide formique à 0,1 %. Le fluralaner a ensuite été extrait en phase solide couplée à une chromatographie en phase liquide et détecté par spectrométrie de masse.

Les résultats pharmacocinétiques sont présentés dans le Tableau VI ci-dessous. La Figure 28 représente l'évolution de la concentration plasmatique en fluralaner en fonction du temps.

Tableau VI - Paramètres pharmacocinétiques plasmatiques du fluralaner chez le chien suite à une unique administration par voie intraveineuse

D'après (Kilp et al. 2014a)

Paramètres	*Voie intraveineuse 12,5 mg/kg (n=6)*
C_{max} *(ng/mL)*	7109 ± 908
t_{max} *(jours)*	n/a[9]
$AUC_{(J0\text{-}J112)}$ *(jour*ng/mL)*	87198 ± 11835
$AUC_{(0\rightarrow\infty)}$ *(jour*ng/mL)*	87779 ± 12004
$t_{1/2}$ *(jours)*	15 ± 2
MRT (jours)	20 ± 3
Cl (L/kg/jour)	0.14 ± 0.02
V_z *(L/kg)*	3.1 ± 0.5

Les valeurs sont présentées sous la forme « valeur moyenne ± écart type ».

[9] non applicable (*not applicable*)

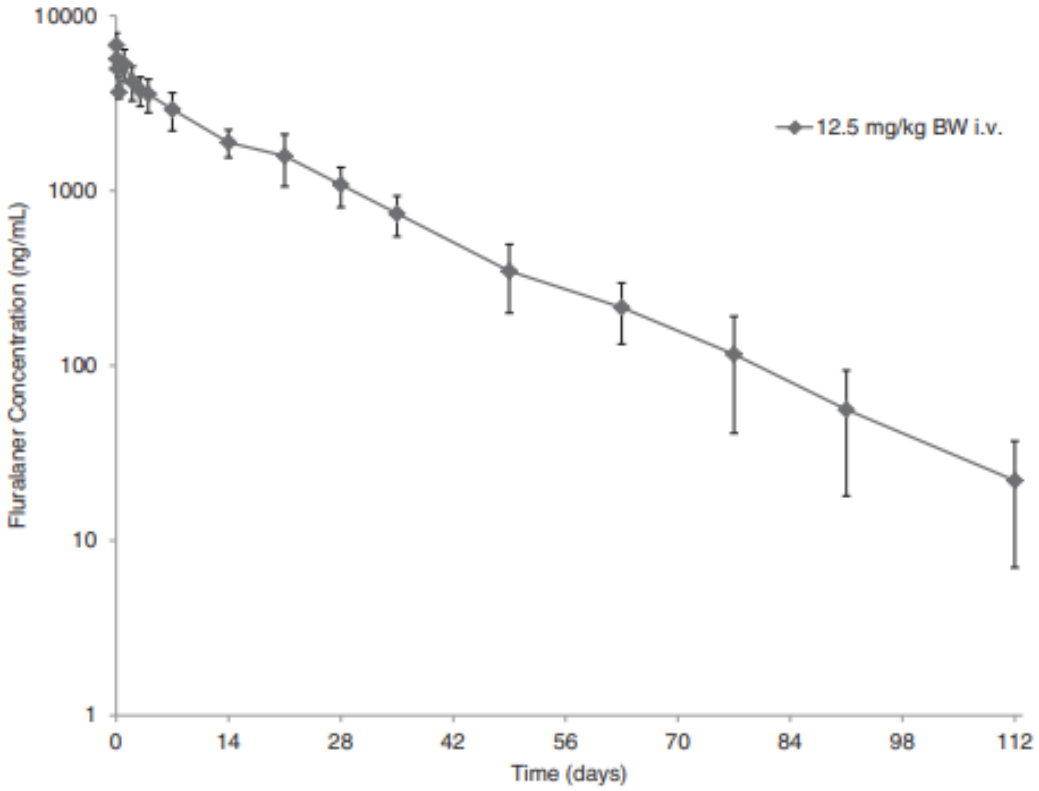


Figure 28 - Concentrations plasmatiques de fluralaner chez le chien après une administration unique par voie intraveineuse

D'après (Kilp et al. 2014)

On remarque que la concentration en fluralaner diminue lentement en fonction du temps. Le fluralaner est encore facilement dosable au bout de 112 jours après administration, ce qui suggère une longue persistance systémique du principe actif dans l'organisme des chiens étudiés.
La clairance plasmatique totale s'élève à 0,14 L/kg/j et le volume de distribution apparent à 3,1 L/kg, ce qui montre que le fluralaner se distribue bien dans les tissus après une administration par voie intraveineuse.
Le temps de demi-vie et le MRT sont respectivement de 15 et de 20 jours, révélant un processus lent d'élimination du principe actif.

3. Etude pharmacocinétique du fluralaner suite à une administration par voie orale chez le chien (d'après *Kilp et al. 2014*)

La même étude portait également sur l'évaluation de la pharmacocinétique du fluralaner suite à une administration par voie orale chez le chien.
Trois groupes de 6 beagles ont été constitués (d'âge compris entre 1 et 2 ans et de masse corporelle comprise entre 7,8 et 11,4 kg), lesquels ont chacun reçu respectivement 12,5 mg/kg, 25 mg/kg et 50 mg/kg de fluralaner sous forme de comprimés à croquer (la valeur moyenne de 25 mg/kg a été choisie selon les recommandations du laboratoire MSD).

Par la suite, des prélèvements sanguins sont réalisés et analysés selon le même procédé expliqué précédemment.

Les résultats pharmacocinétiques sont présentés dans le Tableau VII ci-dessous.

Tableau VII - Paramètres pharmacocinétiques plasmatiques du fluralaner chez le chien suite à une unique administration par voie orale

D'après (Kilp et al. 2014)

Paramètres	*Voie orale 12,5 mg/kg (n=6)*	*Voie orale 25,0 mg/kg (n=6)*	*Voie orale 50,0 mg/kg (n=6)*
C_{max} *(ng/mL)*	2144 ± 860	3948 ± 1734	5419 ± 2086
t_{max}[10] *(jours)*	1 (0,08-2)	1 (1-2)	1 (0,17-3)
$AUC_{(J0-J112)}$ *(jour*ng/mL)*	29665 ± 13858	46115 ± 18932	70171 ± 26412
$AUC_{(0\rightarrow\infty)}$ *(jour*ng/mL)*	29922 ± 13808	46416 ± 18929	70531 ± 26529
$t_{1/2}$ *(jours)*	13 ± 1	12 ± 3	14 ± 1
MRT (jours)	19 ± 2	15 ± 4	17 ± 3
Cl (L/kg/jour)	n/a[11]	n/a	n/a
V_z *(L/kg)*	n/a	n/a	n/a

Les valeurs sont présentées sous la forme « valeur moyenne ± écart type ».

[10] Contrairement au reste des valeurs, la médiane est indiquée ici.
[11] Non applicable (*not applicable*)

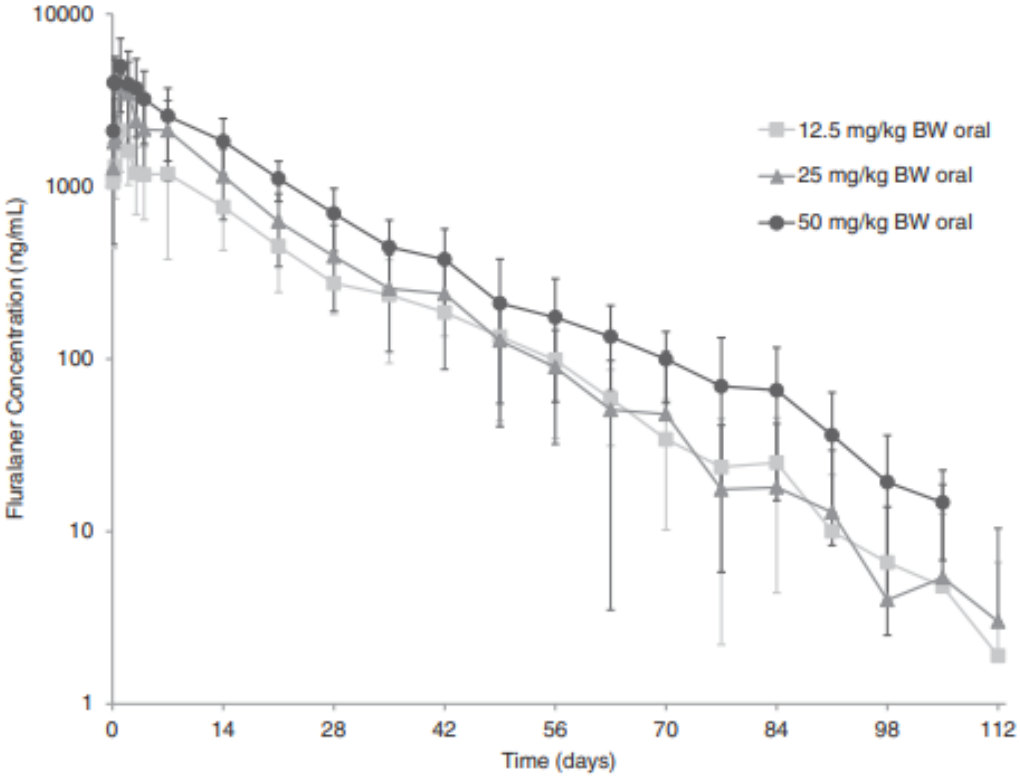


Figure 29 - Concentrations plasmatiques de fluralaner chez le chien après une administration unique par voie orale

D'après (Kilp et al. 2014)

Comme par voie intraveineuse, la concentration plasmatique en fluralaner suite à une unique administration par voie orale diminue progressivement au cours du temps (Figure 29).
Quelques pics de concentration sont observés pendant 112 jours, laissant penser à une redistribution du principe actif, soit une recirculation entéro-hépatique.
Du fluralaner a pu être dosé à une valeur supérieure à 10 ng/mL après 112 jours, ce qui montre également une longue persistante systémique.

La biodisponibilité orale F^{PO} (en %) s'exprime selon la formule suivante :

$$F^{PO} = \frac{AUC_{0\to\infty}^{PO} \times Dose^{IV}}{AUC_{0\to\infty}^{IV} \times Dose^{PO}} \qquad (1)$$

où $AUC_{0\to\infty}$ est l'aire sous la courbe entre le temps 0 et l'infini (selon une administration PO ou IV) ;
Dose est la dose du produit administrée PO ou IV.

Selon l'équation (1), la biodisponibilité orale est inversement proportionnelle à la dose administrée par voie orale : elle est respectivement de 34 ± 16 %, 26 ± 11 %, et 20 ± 8 % pour 12,5, 25 et 50 mg/kg de fluralaner. Cela signifie que plus la dose est importante, moins le fluralaner parvient à la circulation générale.

On remarque également que, peu importe la dose administrée, la concentration plasmatique maximale en fluralaner est atteinte en un jour en moyenne.
Le temps de demi-vie ne semble pas dépendre de la dose administrée, il reste constant autour de 13 jours. Le MRT varie entre 13 et 17 jours, ce qui montre une nouvelle fois que le processus d'élimination est lent.

L'ensemble de ces résultats pharmacocinétiques permettent d'expliquer l'activité prolongée du fluralaner en tant que traitement antiparasitaire externe après une administration unique par voie orale.

La nourriture semble avoir une influence sur la pharmacocinétique du fluralaner par voie orale chez le chien. En effet, une étude a montré que des chiens nourris 15 minutes avant l'administration du médicament ont présenté une aire sous la courbe ainsi qu'une concentration maximale doublées que chez des chiens qui n'ont pas mangé auparavant. Ainsi, l'administration de comprimés à croquer avec de la nourriture augmenterait la biodisponibilité du fluralaner (*F. Walther et al. 2014*).

Une nouvelle étude parue en 2016 a évalué la pharmacocinétique du fluralaner avec une nouvelle voie d'administration : la voie topique (également appelée *spot-on*). Cette étude intègre pour la première fois le chat en tant que nouvelle espèce-cible du BRAVECTO®.

4. Etude pharmacocinétique du fluralaner suite à une administration par voie topique (*spot-on*) chez le chien (d'après *Kilp et al. 2016*)

Vingt-quatre chiens de race beagle, mâle et femelle, d'un âge compris entre 12 et 17 mois et de masse corporelle moyenne entre 7,4 et 12,1 kg, ont été choisis pour participer à l'étude. Ils ont été répartis en 3 groupes de 6 (les 6 autres chiens ayant reçu un traitement par voie intraveineuse), chacun recevant respectivement une dose de 12,5, 25 et 50 mg/kg de fluralaner (BRAVECTO® *spot-on*) en plusieurs points le long de la ligne du dos, entre les omoplates puis 5 à 10 cm plus caudalement. Des échantillons de sang ont été prélevés à la veine jugulaire puis analysés *via* chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse.

Les résultats pharmacocinétiques pour le chien sont compilés dans le Tableau VIII ci-dessous.

Tableau VIII - Paramètres pharmacocinétiques plasmatiques du fluralaner chez le chien suite à une unique administration par voie topique (spot-on)

D'après (*Kilp et al. 2016*)

Paramètres	*Voie topique 12,5 mg/kg (n=6)*	*Voie topique 25,0 mg/kg (n=6)*	*Voie topique 50,0 mg/kg (n=6)*
C_{max} *(ng/mL)*	358 ± 94	3948 ± 1734	5419 ± 2086
t_{max}[12] *(jours)*	42 (21-63)	25 (14-56)	25 (7-42)
$AUC_{(J0-J112)}$ *(jour*ng/mL)*	18933 ± 3599	41243 ± 7467	85852 ± 17283
$AUC_{(0\rightarrow\infty)}$ *(jour*ng/mL)*	19577 ± 3982	43375 ± 8752	93468 ± 20424
$t_{1/2}$ *(jours)*	17 ± 4	21 ± 3	17 ± 3
t_{last} *(jours)*	112 ± 0	112 ± 0	112 ± 0
MRT (jours)	47 ± 1	48 ± 4	43 ± 6
Cl (L/kg/jour)	n/a[13]	n/a	n/a
V_z *(L/kg)*	n/a	n/a	n/a
F (%)	22 ± 4	24 ± 4	25 ± 5

Les valeurs sont présentées sous la forme « valeur moyenne ± écart type ».

[12] Contrairement au reste des valeurs, la médiane est indiquée ici.
[13] Non applicable (*not applicable*)

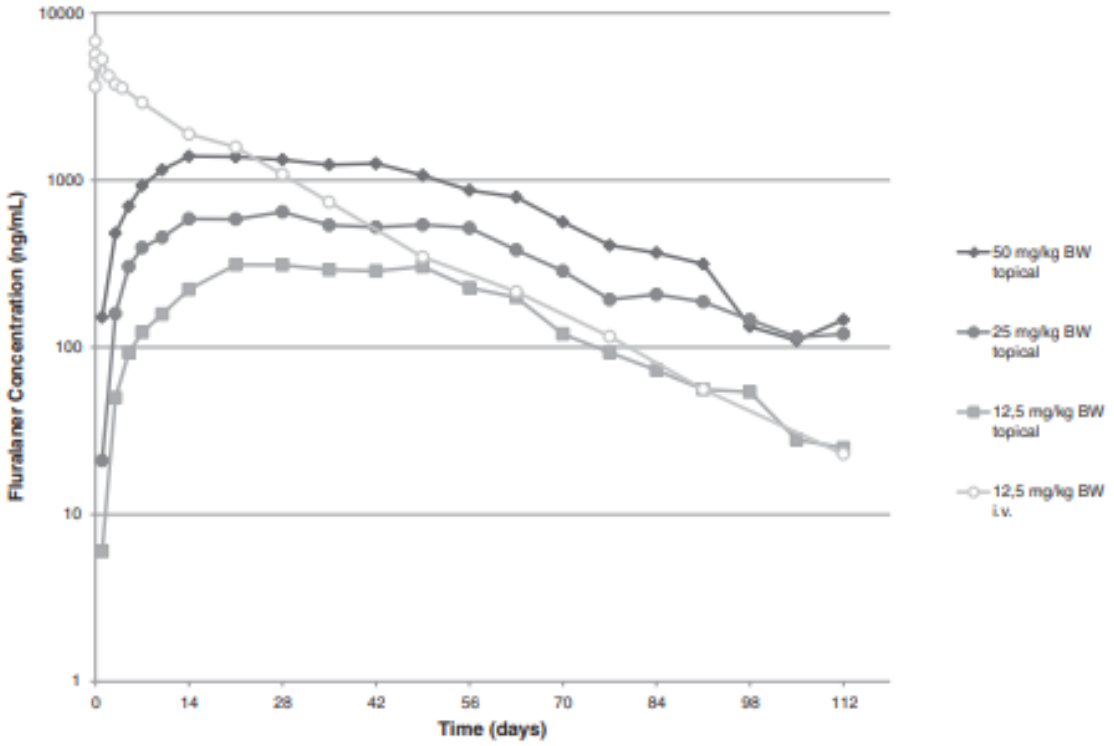


Figure 30 - Concentrations plasmatiques de fluralaner chez le chien après une administration unique par voie topique (spot-on)

D'après (Kilp et al. 2016)

Le graphique (Figure 30) montre que le fluralaner pénètre très rapidement dans le sang (et donc dans la peau et les tissus sous-jacents).
La concentration plasmatique atteint une phase de plateau entre les jours 7 et 63, avec des C_{max} atteintes dans cette fourchette de temps. Puis, la concentration en fluralaner diminue mais reste quantifiable au-delà de 10 ng/mL 112 jours après administration.
La biodisponibilité est autour de 25 %. La C_{max} et l'aire sous la courbe semblent proportionnelles à la dose administrée. La principale voie d'élimination du fluralaner semble être hépatique du fait de la grande capacité de liaison aux protéines. La clairance hépatique est alors équivalente à la clairance plasmatique totale, qui reste très faible (0,14 L/kg/j). Le temps de demi-vie, $t_{1/2}$ est ainsi toujours très long, de même que le temps de résidence moyen du fluralaner dans le sang, ce qui montre une longue persistance systémique.

5. Etude pharmacocinétique du fluralaner suite à une administration par voie topique (*spot-on*) chez le chat (d'après *Kilp et al. 2016*)

De la même manière, 3 groupes de 6 chats européens (d'âge compris entre 9 et 11 mois et de masse corporelle moyenne comprise entre 2,2 et 4,8 kg) ont été constitués, selon le traitement donné (20, 40 et 80 mg/kg), sur la ligne du dos, depuis la base du crâne puis 5 à 10 cm plus caudalement. Les mêmes conditions de prélèvement, de conservation et les mêmes méthodes d'analyse sont employées.
Les résultats pharmacocinétiques pour le chat sont rassemblés dans le Tableau IX ci-dessous.

Tableau IX - Paramètres pharmacocinétiques plasmatiques du fluralaner chez le chat suite à une unique administration par voie topique (spot-on)

D'après (Kilp et al. 2016)

Paramètres	*Voie topique 20,0 mg/kg (n=6)*	*Voie topique 40,0 mg/kg (n=6)*	*Voie topique 80,0 mg/kg (n=6)*
C_{max} *(ng/mL)*	757 ± 328	1850 ± 808	2399 ± 865
t_{max}[14] *(jours)*	9 (5-10)	6 (3-14)	9 (7-21)
$AUC_{(J0-J112)}$ *(jour*ng/mL)*	22065 ± 7996	48161 ± 15294	89193 ± 21413
$AUC_{(0\rightarrow\infty)}$ *(jour*ng/mL)*	22276 ± 7996	48400 ± 15177	89690 ± 21479
$t_{1/2}$ *(jours)*	13 ± 2	12 ± 4	12 ± 1
t_{last} *(jours)*	93 ± 14	102 ± 12	110 ± 6
MRT (jours)	24 ± 3	23 ± 7	29 ± 5
Cl (L/kg/jour)	n/a[15]	n/a	n/a
V_z *(L/kg)*	n/a	n/a	n/a
F (%)	25 ± 9	28 ± 9	25 ± 6

Les valeurs sont présentées sous la forme « valeur moyenne ± écart type ».

[14] Contrairement au reste des valeurs, la médiane est indiquée ici.
[15] Non applicable (*not applicable*)

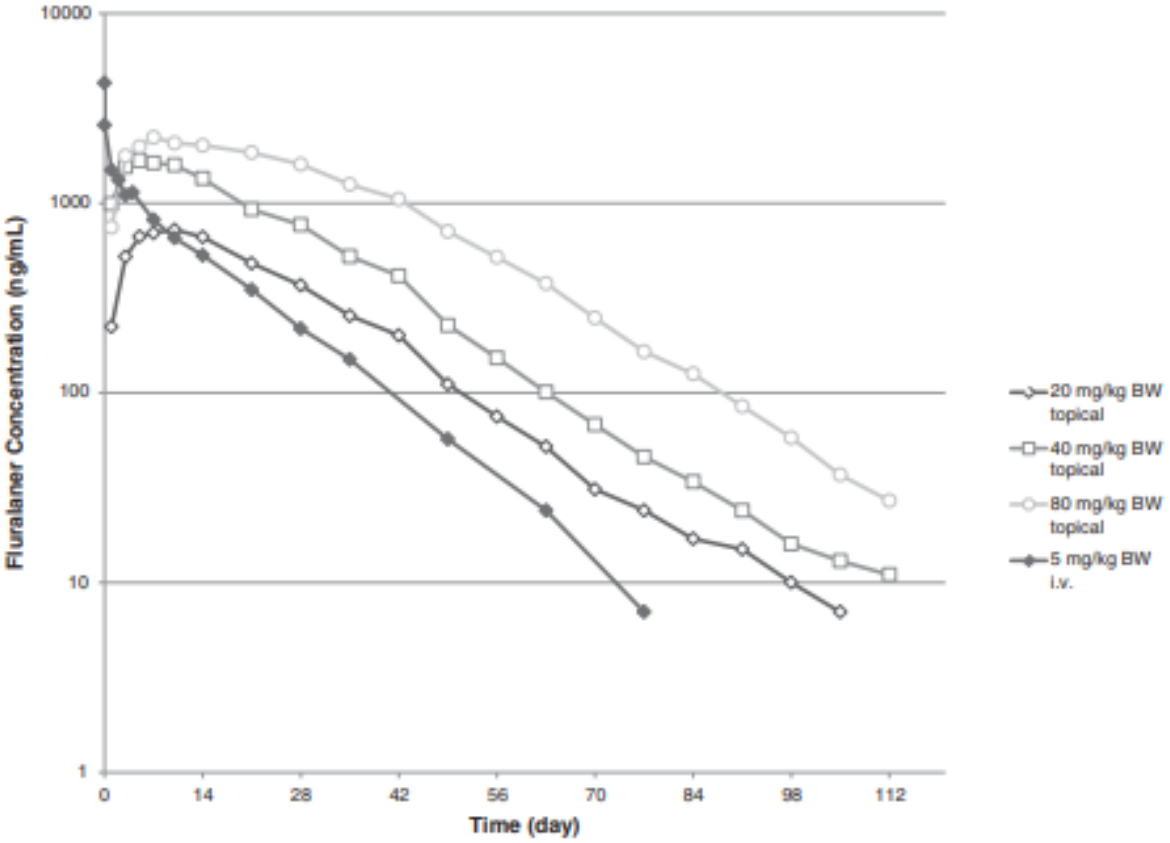


Figure 31 - Concentrations plasmatiques de fluralaner chez le chat après une administration unique par voie topique (spot-on)

D'après (Kilp et al. 2016)

Chez les chats, le fluralaner est également rapidement absorbé, et atteint des concentrations maximales pour des temps compris entre 3 et 21 jours. Puis la concentration décroît progressivement au fil du temps (Figure 31).

Les tendances sont globalement identiques à celles du chien, suggérant une rapide absorption, une longue persistance dans l'organisme ainsi qu'une élimination principalement hépatique. Les expositions plasmatiques au principe actif (soit les aires sous la courbe) sont deux fois plus faibles chez le chien que le chat. Les t_{max}, les $t_{1/2}$ et les MRT sont plus courts chez le chat que le chien, suggérant une absorption et une élimination plus rapide chez le chat.
Cela concorde avec la recommandation du laboratoire d'administrer une dose minimale plus importante de BRAVECTO® au chat (40 mg/kg) qu'au chien (25 mg/kg) par voie topique (*spot-on*) pour assurer une couverture de 12 semaines contre les puces et les tiques.

L'ensemble de ces résultats, mis en relation avec le RCP du produit (MSD, 2014) qui stipule que ***le fluralaner est éliminé à 90 % sous forme inchangée dans les fèces****, justifie l'approche employée dans la discussion du manuscrit et la comparaison possible avec les valeurs de pharmacocinétique obtenues par Kilp et al. chez le chien et le chat.*

iv. Toxicité, tolérance et interactions

L'évaluation de la sécurité du fluralaner suite à une unique administration orale dans des doses nettement plus élevées que la dose recommandée (56, 168 et 280 mg/kg données à 8 semaines d'intervalle) à 8 semaines d'intervalle n'a pas révélé d'effets secondaires, de conséquences néfastes cliniques ou lésionnelles post-mortem macroscopiques et microscopiques (*Walther et al. 2014*).
Un cas de toxicité neurologique chez un Kooikerhondje a été décrit en 2019 suite à l'administration d'un comprimé de BRAVECTO®. Cependant, il n'est pas exclu que les troubles neurologiques (ataxie symétrique généralisée, tête penchée à gauche, troubles de l'équilibre) soient dus à d'autres anomalies qui n'avaient pas été décelées auparavant ou des réactions d'hypersensibilité à d'autres traitements réalisés plus tôt chez cet animal (*Gaens et al. 2019*).
Selon le laboratoire MSD, il est également spécifié que, suite à une administration par voie orale, « des effets gastro-intestinaux légers et transitoires tels que diarrhée, vomissements, inappétence et ptyalisme ont été fréquemment observés lors des essais cliniques (1,6 % des chiens traités) ». Concernant la voie topique (*spot-on*), « des réactions cutanées légères et transitoires au niveau du site d'application, telles que de l'érythème ou de l'alopécie, ont été fréquemment observées lors des essais cliniques […] ». Ce type de réactions concerne 1,6 % des chiens traités et 2,2 % des chats traités (*MSD, 2015*).

Le BRAVECTO® est bien toléré chez les chiens présentant une mutation du gène MDR1. Des essais cliniques avec une administration unique par voie orale à 3 fois la dose recommandée, soit 168 mg/kg, chez des colleys, n'ont pas révélé d'effets secondaires associés (*Walther, Paul, et al. 2014).*

Le laboratoire apporte des précisions sur l'écotoxicité provoquée par le BRAVECTO® dans son Safety Data Sheet (*MSD, 2015*) : le produit est très toxique dans le milieu aquatique (Tableau X).

Tableau X - Informations sur l'écotoxicité du fluralaner

D'après MSD, 2015

Ecotoxicité du fluralaner			
Toxicité aquatique	LC_{50}[16] sur 96 h (chez la carpe commune) 2 mg/L	EC_{50}[17] sur 48 h (chez *Daphnia magna*) 0,0001 – 0,01 mg/L	EC_{50} sur 72 h (chez *R. subcapitata*) > 10 mg/L
Persistance dans l'environnement et dégradation	*Pas de données sur la biodégradation*[18]	Biodégradation aérobie dans les sols : DT_{50} = 60 jours	Taux d'hydrolyse : $t_{1/2}$ > 1 an (25°C) à pH 4, 7 et 9
Potentiel de bioaccumulation	Coefficient de partage octanol/eau[19] : log(Pow) = 4,5		
Mobilité dans le sol	Coefficient d'adsorption/désorption[20] dans les sols : log(Koc) entre 4190 et 6255		
Facteur de bioconcentration	BCF[21] = 27		

[16] La LC_{50} désigne la concentration à partir de laquelle 50 % de la population est morte.

[17] La EC_{50} (concentration efficace médiane) désigne la concentration d'un produit qui induit une réponse entre la ligne de base et l'effet maximal possible.

[18] La biodégradation désigne la dégradation moléculaire de substances organiques par l'action de micro-organismes aérobies ou anaérobies.

[19] Le coefficient de partage octanol/eau est une mesure de la solubilité d'une substance dans l'octanol et l'eau.

[20] Le coefficient de partage carbone organique/eau représente le potentiel de rétention de la molécule sur la matière organique du sol.

[21] Le facteur de bioconcentration (BCF) désigne le rapport entre la concentration d'un produit dans l'organisme et sa concentration dans le sol.

v. Spectre d'action du fluralaner chez les chiens et les chats

Tableau XI - Spectre et durée d'action des trois présentations du BRAVECTO® chez les chiens et les chats

D'après MSD, 2015

 Figure 32 - BRAVECTO® comprimés à croquer pour chiens	
Efficace contre	Puces : *Ctenocephalides felis* (pendant 12 semaines) Tiques : *Ixodes ricinus, Dermacentor reticulatus* et *Dermacentor variabilis* (pendant 12 semaines), *Rhipicephalus sanguineus* (pendant 8 semaines) Acariens de gale : *Demodex canis* (agent de la démodécie)
 Figure 33 - BRAVECTO® spot-on pour chiens	
Efficace contre	Puces : *Ctenocephalides felis* et *Ctenocephalides canis* (pendant 12 semaines) Tiques : *Ixodes ricinus, Rhipicephalus sanguineus* et *Dermacentor reticulatus* (pendant 12 semaines) Acariens de gale : *Demodex canis* et *Sarcoptes scabiei var. cani* (agent de la gale sarcoptique)

 Figure 34 - BRAVECTO® spot-on pour chats	
Efficace contre	Puces : *Ctenocephalides felis* (pendant 12 semaines) Tiques : *Ixodes ricinus* (pendant 12 semaines) Acariens de gale : *Otodectes cynotis* (agent de la gale des oreilles)

L'ensemble des données pour les deux formes galéniques du produit montrent que le fluralaner (BRAVECTO®) est efficace pendant 12 semaines contre les principales espèces de puces et de tiques rencontrées chez le chien et le chat (Tableau XI, Figure 32, Figure 33, Figure 34).
Il a également une activité acaricide en agissant contre les agents de gale sarcoptique, démodécique et otodectique.

vi. Vers une application aux carnivores sauvages ?

Quelques études ont vu le jour récemment pour tenter de transposer les données existantes chez le chien et le chat à d'autres espèces sauvages captives et non captives.
En 2019, des vétérinaires sud-coréens ont tenté d'extrapoler l'efficacité du fluralaner dans le traitement de la gale sarcoptique chez des chiens viverrins admis au Seoul Wildlife Center entre novembre 2017 et avril 2018. Après administration d'une dose unique de comprimé à croquer de BRAVECTO®, un score clinique lésionnel ainsi que des raclages cutanés superficiels ont été effectués toutes les semaines pendant 3 semaines pour évaluer l'efficacité du produit. 7 jours après traitement, une réduction significative des lésions a été remarquée et aucun acarien de gale n'a été observé après raclage cutané (*Hyun et al. 2019).*

La question d'une efficacité du fluralaner sur les carnivores sauvages se pose en parc zoologique, là où les préoccupations concernant le parasitisme externe se multiplient.
C'est ce qui a motivé le Parc Zoologique de Paris à mettre en place une étude pilote permettant d'établir le profil pharmacocinétique du fluralaner chez certaines de leurs espèces de carnivores sauvages.

Partie expérimentale

Mise en place d'un protocole expérimental pour étudier la pharmacocinétique du fluralaner chez les carnivores sauvages

I. Préambule : objectifs de l'étude

Cette étude part du constat qu'il n'existe actuellement aucune AMM décrite concernant le traitement antiparasitaire en parc zoologique.
Le principe de la cascade doit s'appliquer lorsque cela est jugé nécessaire (Figure 35). Ce manque de données concernant la pharmacologie des antiparasitaires actuellement sur le marché pour les chiens et les chats pousse le Parc Zoologique de Paris à lancer une étude pilote afin de pallier ce manque de données et approfondir les données pharmacocinétiques du fluralaner en parc zoologique.

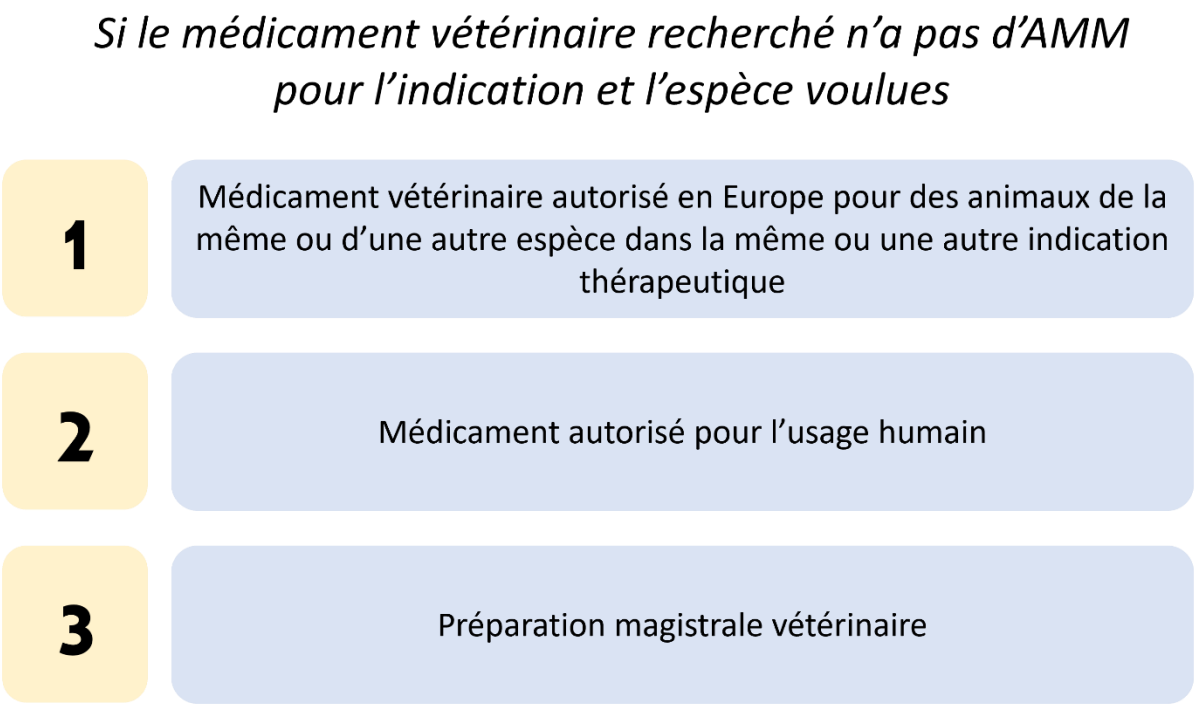


Figure 35 - Principe de la cascade vétérinaire

D'après (Règlement (UE) 2019/ du Parlement européen et du Conseil du 11 décembre 2018 relatif aux médicaments vétérinaires et abrogeant la directive 2001/82/CE s. d.).

Cette nouvelle cascade simplifie la précédente et place l'ensemble des médicaments vétérinaires, qu'ils soient pour la même ou pour une autre espèce et pour la même ou pour une autre indication thérapeutique, avant les médicaments à usage humain. Elle entrera en vigueur le 28 janvier 2022.

L'objectif de cette étude est ainsi de pouvoir établir un profil pharmacocinétique du fluralaner et de le comparer aux graphiques validés chez le chien et le chat afin d'en dégager les éventuelles nouvelles applications du traitement en parc zoologique.

II. Matériel et méthodes

a. Population étudiée

Afin de pouvoir comparer les données pharmacocinétiques existantes respectivement chez le chien et le chat, il a été décidé de séparer la population étudiée en deux groupes correspondant aux deux sous-ordres des Carnivores : les caniformes (du latin *Caniformia*), regroupant notamment la famille des canidés, dont fait partie le chien, et les féliformes (du latin *Feliformia*), parmi lesquels on trouve la famille des félidés, dont fait partie le chat.
Les individus sélectionnés de l'étude proviennent tous du Parc Zoologique de Paris.
9 espèces ont été désignées pour faire partie de l'étude :

- le lion de l'Atlas (*Panthera leo leo*) ;
- le puma (*Puma concolor*) ;
- le jaguar (*Panthera onca*) ;
- le fossa (*Cryptoprocta ferox*) ;
- et le suricate (*Suricata suricatta*),

appartenant au sous-ordre des féliformes,

- le loup ibérique (*Canis lupus signatus*) ;
- le chien des buissons (*Speothos venaticus*)
- le coati roux (*Nasua nasua*) ;
- et la loutre d'Europe (*Lutra lutra*),

appartenant au sous-ordre des caniformes.

Entre 2 et 4 individus de chaque espèce sont intégrés au protocole avec, pour chacune des espèces, un témoin négatif qui ne reçoit pas de traitement antiparasitaire. Les individus d'une même espèce sont tous seuls dans leur enclos, sauf pour certains : les coatis roux sont dans le même enclos que les chiens des buissons et les suricates cohabitent avec des otocyons. Les animaux témoins sont avec les animaux traités pendant la journée sauf pour les fossas où une séparation est faite.
L'ensemble des individus sélectionnés est résumé dans le Tableau XII.

Tableau XII – Population de l'étude

Sous-ordre	Espèce étudiée	Nombre d'individus	Noms des individus[22]
Féliformes (14 individus)	Lion de l'Atlas (*Panthera leo leo*)	4	*Kibo* Savannah Buni Volcan
	Puma (*Puma concolor*)	4	*Maeli* Macéo Emy Kali
	Jaguar (*Panthera onca*)	2	*Aramis* Simara
	Fossa (*Cryptoprocta ferox*)	2	*Zanahary* Sambara
	Suricate (*Suricata suricatta*)	2	*Chobe* Garoa
Caniformes (9 individus)	Loup ibérique (*Canis lupus signatus*)	2	*Diego* Enrique
	Chien des buissons (*Speothos venaticus*)	3	*Mala* Oakley Chispa
	Coati roux (*Nasua nasua*)	2	*Bianca* Zouni
	Loutre d'Europe (*Lutra lutra*)	2	*Becca* Dieko

b. *Méthodologie d'étude et protocole expérimental*

i. *Traitement des individus : méthode d'extrapolation des doses de fluralaner appliquée aux carnivores sauvages en parc zoologique*

La dose nécessaire minimale de fluralaner à administrer à un carnivore sauvage pour un traitement efficace contre les parasites externes n'étant pas connue, la méthode de l'extrapolation de dose s'applique alors.
Elle consiste, comme son nom l'indique, à extrapoler les données existantes chez certaines espèces afin de pouvoir les appliquer à d'autres espèces-cibles.
Deux types d'extrapolation sont décrits afin de doser des substances pharmacologiques : l'extrapolation linéaire et l'extrapolation allométrique (*CENDRA 2012*).

[22] En italique, les individus témoin négatif de chaque espèce *(ne sont pas traités au fluralaner).*

La première sous-entend qu'il existe une corrélation linéaire entre la dose du produit à administrer (en mg) et la masse corporelle de l'animal cible (en kg). Autrement dit, plus l'animal est lourd, plus la dose à administrer est importante (ce qui paraît logique de prime abord).
Cependant, les différences de métabolisme entre les espèces vis-à-vis de certaines molécules impliquent que cette relation n'est pas linéaire.
Un exemple frappant de la limite de cette extrapolation est celui de Tusko (*West, Pierce, et Thomas 1962*). En 1962, les scientifiques ont tenté de reproduire, chez cet éléphant d'Asie d'un zoo des Etats-Unis, un état de folie temporaire qui avait été observé chez des éléphants mâles non captifs. Ils ont alors administré la même dose de LSD donnée chez les chats pour mimer les signes cliniques de la rage. Tusko a présenté un violent *status epilepticus*[23] avant de succomber aux effets délétères de la molécule. Le métabolisme de l'éléphant étant plus lent, la dose était bien trop élevée pour Tusko. Les méthodes allométriques ont plus tard démontré qu'il aurait fallu administrer une dose de LSD 56 fois plus petite (*Mahmood 2007*).

La deuxième méthode retenue est celle de l'extrapolation allométrique, ou métabolique, qui prend en compte la relation inversement proportionnelle entre la taille de l'animal et sa surface liée à sa masse corporelle. Ainsi, des animaux grands et larges ont plus de difficulté à perdre de la chaleur que des animaux petits et fins (*Sharma et McNeill 2009*). Un nouveau facteur est alors introduit : le taux métabolique de base (TMB). Une formule mathématique est établie, reliant le taux métabolique de base et la masse corporelle de l'animal (*Kleiber 1932*) :

$$P = aW^b \tag{1}$$

où P est le taux métabolique de base (en kcal/kg/j) ;

W est la masse corporelle de l'animal (en kg) ;

a est une constante, également appelée le *niveau métabolique*, et définie comme la dépense énergétique journalière d'un animal adulte homéotherme (en kcal/j). Il dépend du taxon étudié (Tableau XIII).

b est une constante évaluée à environ 0,75, les régressions calculées par Kleiber en 1932 et ajustées par la suite (*Brody et Lardy 1946; Schmidt-Nielsen et Knut 1984*) montrant que le taux métabolique de base est environ proportionnel aux ¾ de la masse corporelle de l'animal.

[23] Le status epilepticus est défini par la *Neurocritical Care Society* comme une crise convulsive avec au moins 5 minutes consécutives d'activité clinique et/ou électrique d'épilepsie ou des crises convulsives récurrentes sans récupération entre les crises (*Wylie, Sandhu, et Murr 2021*).

Tableau XIII - Valeur de la constante a selon le groupe taxinomique étudié et la température corporelle moyenne des espèces

D'après (Cassar 2020; Hainsworth 1981)

Groupe taxinomique		Valeur de *a (en kcal/j)*	Température corporelle moyenne *(°C)*
Oiseaux	Passériformes	129	42
	Non passériformes	78	40
Mammifères	Placentaires	**70**	37
	Marsupiaux	49	35

Dans le cadre de notre étude qui porte uniquement sur des carnivores sauvages, nous prendrons a $= 70$ pour tous les individus.

Les travaux de Sedwick et Pokras en 1988 ont permis de lier la dose à administrer au taux métabolique de base par la formule suivante :

$$\frac{D_{cible}}{P_{cible}} = \frac{D_{référence}}{P_{référence}}$$

Ainsi,

$$D_{cible} = \frac{D_{référence}}{P_{référence}} \times P_{cible} \qquad (2)$$

où P est le taux métabolique de base (en kcal/kg/j) ;
D est la dose totale à administrer (en mg).

La recommandation en vigueur pour le chien est en moyenne de 40,5 mg/kg de fluralaner à administrer en une unique dose par voie orale (*Herman et Santos 2021*). Ainsi, pour un chien de 20 kg :
$D_{référence} = 810\ mg$ et $P_{référence} = 662\ kcal/kg/j$

Cela permet finalement de simplifier l'équation (2) :

$$D_{cible} = cP_{cible} \qquad (3)$$

Avec c ≈ 1,22 mg.kcal^{-1}.kg^{-1}.j^{-1}

Les taux métaboliques de base cibles ont été calculés à partir des masses corporelles moyennes et rassemblés dans le Tableau XIV.

Tableau XIV - Taux métabolique de base des espèces de l'étude

Espèce cible	Masse corporelle moyenne[24] : W (en kg)	Taux métabolique de base : P_{cible} (en kcal/kg/j)
Lion d'Afrique (*Panthera leo leo*)	175	3368
Puma (*Puma concolor*)	63	1565
Jaguar (*Panthera onca*)	81,2	1893
Fossa (*Cryptoprocta ferox*)	9,5	379
Loup ibérique (*Canis lupus signatus*)	34,9	1005
Chien des buissons (*Speothos venaticus*)	6	268
Suricate (*Suricata suricatta*)	0,8	59
Coati roux (*Nasua nasua*)	4,8	225
Loutre d'Europe (*Lutra lutra*)	6,8	295

Ainsi, selon l'équation (3), nous sommes en mesure de déterminer les doses totales cibles à administrer et retrouver le dosage correspondant par espèce étudiée (Tableau XV).

[24] D'après *(Ernest 2003)*

Tableau XV - Dose totale cible à administrer et dosage correspondant par espèce étudiée

Espèce cible	Dose totale D_{cible} (en mg)	Dosage (en mg/kg)
Lion d'Afrique (*Panthera leo leo*)	3536	20,2
Puma (*Puma concolor*)	1644	26,1
Jaguar (*Panthera onca*)	1987	24,5
Fossa (*Cryptoprocta ferox*)	398	41,9
Loup ibérique (*Canis lupus signatus*)	1055	30,2
Chien des buissons (*Speothos venaticus*)	282	47,0
Suricate (*Suricata suricatta*)	62	77,7
Coati roux (*Nasua nasua*)	236	49,8
Loutre d'Europe (*Lutra lutra*)	310	45,5

ii. Quantité de comprimés administrée

Les traitements administrés se présentent sous forme de comprimés à croquer pour chiens BRAVECTO® (*voir III.b.v de la partie bibliographique*).
Chaque individu de l'étude a donc reçu une quantité de comprimés correspondant à la dose totale calculée selon les extrapolations allométriques présentées dans le Tableau XV plus haut.

L'ensemble des quantités de comprimés à croquer administrées à chaque individu de l'étude est rassemblé dans le Tableau XVI ci-dessous.

Tableau XVI - Quantité de comprimés administrée à chaque individu de l'étude et dosage réel correspondant

Espèce étudiée	Noms des individus[25]	Nombre de comprimés BRAVECTO®
Lion d'Afrique (*Panthera leo leo*)	*Kibo*	3 comprimés 1400 mg
	Savannah	2 comprimés 1400 mg
	Buni	
	Volcan	
Puma (*Puma concolor*)	*Maeli*	1 comprimé 1000 mg
	Macéo	
	Kali	
	Emy	½ comprimé 1000 mg
Jaguar (*Panthera onca*)	*Aramis*	1 comprimé 1400 mg
	Simara	
Fossa (*Cryptoprocta ferox*)	*Zanahary*	1 comprimé 250 mg
	Sambara	
Suricate (*Suricata suricatta*)	*Chobe*	1 comprimé 112,5 mg
	Garoa	
Loup ibérique (*Canis lupus signatus*)	*Diego*	1 comprimé 1000 mg
	Enrique	
Chien des buissons (*Speothos venaticus*)	*Mala*	1 comprimé 250 mg
	Oakley	
	Chispa	
Coati roux (*Nasua nasua*)	*Bianca*	1 comprimé 250 mg
	Zouni	
Loutre d'Europe (*Lutra lutra*)	*Becca*	1 comprimé 250 mg
	Dieko	

[25] En italique, les individus témoin (non traités)

iii. Prélèvement des échantillons sur le terrain

Le protocole de prélèvements des échantillons, présenté en Annexe 2, s'inspire ce celui qui a été réalisé pour les études pharmacocinétiques du fluralaner chez le chien et le chat (*Kilp et al. 2014a*). Cependant, nous travaillerons ici sur des prélèvements fécaux et non sur des prélèvements plasmatiques pour des raisons évidentes de manipulation d'espèces sauvages captives (dangerosité des individus, difficulté de réalisation de prises de sang sans sédations régulières…).
Les échantillons fécaux (90 % du BRAVECTO® étant éliminé par voie hépatique (*cf. plus haut*)) ont été prélevés 7 jours avant l'administration du traitement, 1 jour après traitement, puis aux jours 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 70, 84, 98 et 112 après traitement.
Les fèces ont été prélevées par des soigneurs différents (mais qui appartiennent au même secteur) et ont été identifiées de trois manières :

(1) dans les loges individuelles où l'animal passe la nuit ;
(2) pour ceux qui ne sont pas individualisés la nuit (carnivores sociaux) :
    (a) isolement sur un enclos seul lorsque cela est possible, le temps de produire une selle ;
    (b) utilisation de colorants alimentaires ou autres moyens de tracer les selles chez les coatis roux, les suricates et les chiens des buissons. Ont été utilisés des colorants bleus, rouges, jaunes et des éléments indigestibles comme des graines de melon ou des graines de courge.

Les fèces de chaque individu ont été homogénéisées, stockées dans des pots de prélèvement (Figure 36), identifiées avec le nom de l'animal et la date de prélèvement, puis conservées à température négative (entre -10 et -18°C) jusqu'à envoi pour analyse au laboratoire de pharmacologie vétérinaire de *VetAgro Sup* à Marcy-l'Etoile (69).

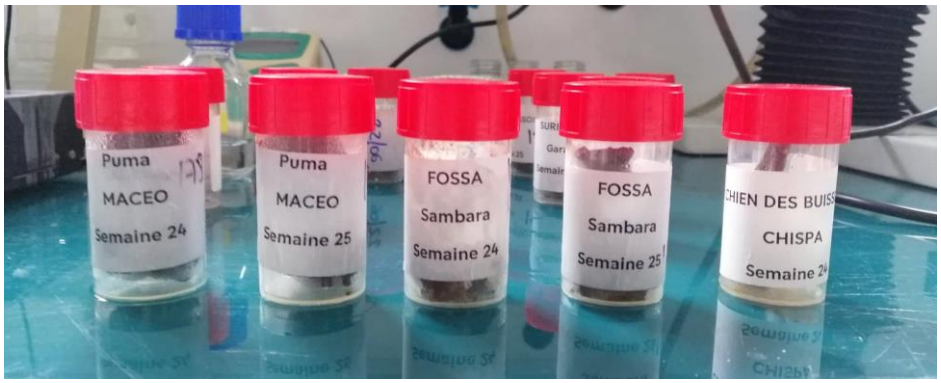


Figure 36 – Pots de prélèvement divers reçus au laboratoire de VetAgro Sup (photo personnelle)

iv. Analyses de laboratoire

1. Préambule : validation du protocole expérimental de dosage du fluralaner

Le protocole de dosage des résidus de fluralaner dans les fèces a été validé par l'unité Interaction-Cellule-Environnement de VetAgro Sup en octobre 2020. L'ensemble des données concernant la validation du protocole est disponible en Annexe 1.

La validation du protocole a pris en compte la fiabilité de plusieurs paramètres, résumés dans le Tableau XVII ci-dessous :

Tableau XVII – Paramètres de caractérisation des performances de la méthode employée

Paramètres étudiés	Définition[26]	Résultats obtenus pour notre protocole	Mesures prises pour s'affranchir des biais de laboratoire
Spécificité	« Capacité à établir de manière univoque l'existence de la substance à analyser en présence d'autres composants potentiellement présents »	Persistance d'un léger bruit de fond non significatif pour le fluralaner, **la méthode est spécifique** pour le composé	
Sensibilité	« Capacité […] à donner une réponse positive quand la cible est présente »		
Carry over	Contamination « inter-échantillons »	**Carry over négligeable** pour le fluralaner (0,00118 %)	Rinçage au méthanol entre chaque série d'analyses
Justesse	« Différence entre un ensemble de valeurs mesurées à l'infini et une valeur de référence »	Présence d'un biais, **l'effet matrice**[27] (environ 43 % dans les fèces)	Introduction d'un étalon interne et quantification sur une gamme d'étalonnage dans la matrice
Fiabilité	Précision des données entre les différentes mesures, en fonction du laboratoire (milieu), de l'opérateur (main d'œuvre), du matériel utilisé (moyens) et du temps : on distingue ainsi **la répétabilité, la fidélité intermédiaire et la reproductibilité des échantillons**	Coefficients de variations entre les mesures inférieurs à 20 %, **la méthode est fiable et répétable**.	
Linéarité	Relation de proportionnalité entre les concentrations calculées et les concentrations théoriques	Relations linéaires vérifiées pour l'ensemble des échantillons testés avec des coefficients de détermination $r^2 > 0,99$	
Limites de détection et de quantification	LLOQ : concentration minimale dans un échantillon quantifiée et/ou détectée justement et fidèlement dans des conditions expérimentales données ULOQ : concentration maximale quantifiée avec justesse et précision LOD : concentration minimum détectable mais non quantifiable avec précision	Dans les fèces : **LOD = 1,6 ng/g** **LLOQ = 8 ng/g** **ULOQ = 1600 ng/g**	Gamme limitée à 1600 ng/g, tout échantillon en dehors des valeurs sera dilué

[26] D'après *(Guide de validation des méthodes d'analyses des laboratoires de référence | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail s. d.*)
[27] Influence de l'environnement chimique d'un atome sur l'intensité de son signal

2. Extraction des substances liposolubles

(a) Préambule : préparation des solutions-mères

Afin de s'affranchir de l'effet matrice démontré lors de la validation du protocole et ainsi obtenir des résultats plus précis, il a été nécessaire d'introduire un étalon interne dans le protocole final (*voir annexe du protocole*). Un autre composé de la famille des isoxazolines a ainsi été choisi : il s'agit du lotilaner, dont les propriétés physico-chimiques semblent le mieux correspondre à celles du fluralaner.

Le lotilaner utilisé pour l'étude expérimentale provient de la société MedChemExpress (MCE) et se présente sous forme de poudre, de pureté égale à 99,6 %, à conserver à -20°C pendant 2 mois.

(b) Pesée et traitement des échantillons avant analyse

Au laboratoire, les pots de prélèvement ont été conservés à température négative (entre -10 et -18°C avant analyse).
Des fiches de laboratoire ont été créées afin de lister les échantillons reçus et de les classer ensemble dans l'ordre chronologique de prélèvement par individu. Sur ces fiches ont été inscrites également les mesures de pesée des échantillons permettant, après analyse, d'obtenir la concentration massive du fluralaner associée.
Un exemple de fiche de laboratoire est présenté en Annexe 4.

Afin de s'affranchir des incertitudes liées au taux d'humidité des échantillons, ceux-ci ont été préalablement pesés frais, placés à l'étuve pendant 2 jours à 60°C puis repesés. Le poids sec ainsi dégagé a permis le calcul des teneurs en fluralaner dans les fèces en ng/g de poids sec.

Pour chaque échantillon (homogénéisé au préalable), 200 mg de fèces fraiches ont été pesées à l'aide d'une balance de précision (Figure 37) puis placées dans un tube à essai de 5 mL.
À cette préparation ont été ajoutés :

- 80 µL d'étalon interne (décrit précédemment) à 0.5 µg/mL
- 200 mg de QuEChERS[28]
- 520 µL d'eau milliQ® (eau déminéralisée)
- 1000 µL d'acétonitrile

La solution ainsi obtenue a ensuite été agitée à l'aide d'un vortex, homogénéisée complètement au TissueRuptor® pendant 60 secondes puis centrifugée pendant cinq minutes à 3200 tours par minute.
Le surnageant obtenu à l'issue de la centrifugation a été prélevé puis introduit dans un vial en verre teinté de 1,5 mL en vue de l'injection et de la séparation par chromatographie en phase liquide.

Figure 37 – Balance de précision utilisée pour la pesée des échantillons (à gauche) et échantillons avant passage dans la centrifugeuse (à droite) (photos personnelles)

3. Séparation des composés

Le fluralaner a été extrait de la solution ainsi obtenue à l'aide d'une méthode de chromatographie par phase liquide (Figure 38). La machine de chromatographie utilisée (qui est couplée avec un spectromètre de masse en tandem) est fournie par la société *Agilent Technologies*®.
Le fluralaner et son étalon interne sont séparés en fonction de leurs affinités avec la phase mobile composée d'acétonitrile et d'un tampon à 10 mM d'ammonium carbonate

[28] La méthode QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*), qui a vu le jour en 2003 dans le cadre d'une étude portant sur l'isolement de pesticides de fruits et légumes, se base sur l'utilisation de sels inorganiques (ici 4 g de sulfate de magnésium + 1 g de chlorure de sodium) pour l'extraction de molécules hydrosolubles de leur phase aqueuse. Cette méthode a gagné rapidement en popularité auprès de la communauté scientifique et est utilisée à grande échelle aujourd'hui dans de nombreux domaines (pesticides, mycotoxines, pharmacologie vétérinaire, criminalistique,…) (*Lehotay et al. 2010; Perestrelo et al. 2019*).

à pH : 9. La colonne de séparation est composée d'une phase Lichrospher C18 de 125 mm de long par 4 mm de diamètre interne.

Les analyses ont été réalisées sur un LC-MS/MS (chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse en tandem) de la gamme *Agilent 1260* (Figure 39) couplé à un détecteur triple quadripôle et en mode MRM (*Multiple Reaction Monitoring*) avec une source à ionisation électrospray (ESI) en mode négatif. Le logiciel *Agilent MassHunter Workstation* simplifie la gestion des échantillons et le traitement des données.

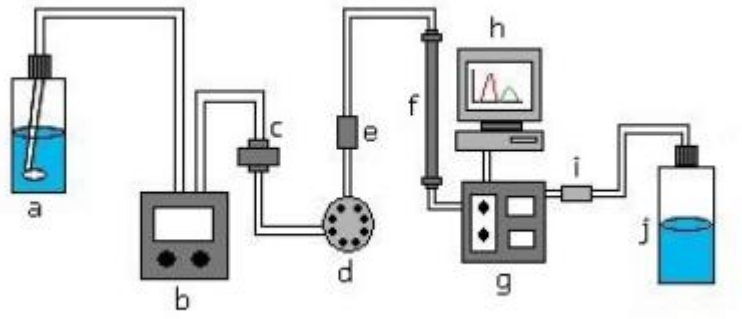


Figure 38 - Principe de la chromatographie en phase liquide

D'après (Liquid Chromatography 2013)

Le système de chromatographie en phase liquide inclut un filtre d'entrée de solvant (a), une pompe (b), un filtre en ligne de solvant (c), une valve d'injection (d), un filtre de précolonne (e), une colonne (f), un détecteur (g), un enregistreur (h), un régulateur de contre-pression (i) et un réservoir de déchets (j).

Figure 39 – Chromatographe utilisé pour l'étude (photo personnelle)

Une fois le fluralaner passé dans le détecteur, un chromatogramme est obtenu, sous la forme d'un pic, correspondant à la migration du composé dans la colonne de chromatographie.

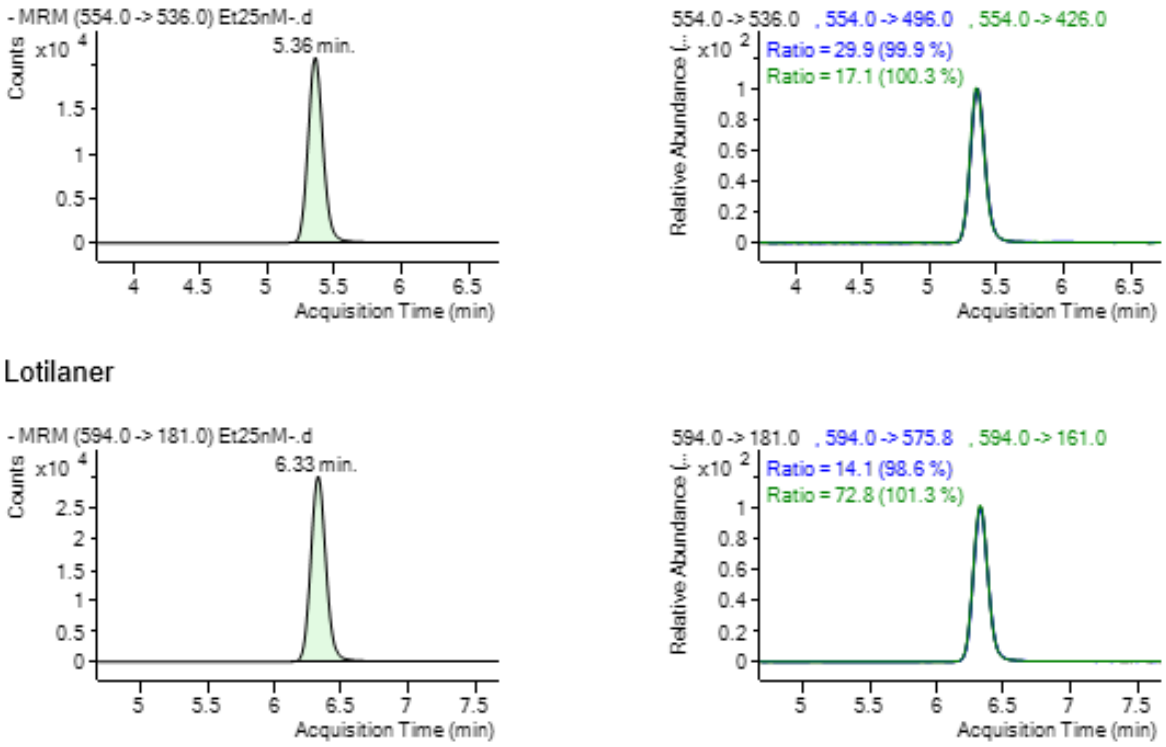


Figure 40 - Chromatogrammes du fluralaner et du lotilaner obtenus lors de la validation du protocole

L'éluant de la colonne de chromatographie est vaporisé puis ionisé, créant ainsi des particules chargées électroniquement.
Un ion précurseur de masse (ou ion parent) est ciblé pour passer dans une cellule de collision pour se fragmenter en plusieurs ions fils *(Grebe et Singh 2011; Vogeser et Parhofer 2007)*.
On remarque dans la Figure 40 qu'à chaque composé correspond un pic spécifique, matérialisant ce qu'on appelle une transition MRM, c'est-à-dire une relation liant un ion parent et son ion fils. Ce sont ces transitions MRM qui assurent la spécificité d'un composé et permettent de le distinguer des autres.

4. Détection et identification du fluralaner dans les fèces

La solution passe ensuite dans le spectromètre de masse en tandem couplé à la chromatographie en phase liquide (Figure 41).
C'est dans cet appareil que le fluralaner va être détecté et identifié (par sa structure chimique) comme tel en fonction de sa masse.

Figure 41 – Spectromètre de masse utilisé pour l'étude (photographie personnelle)

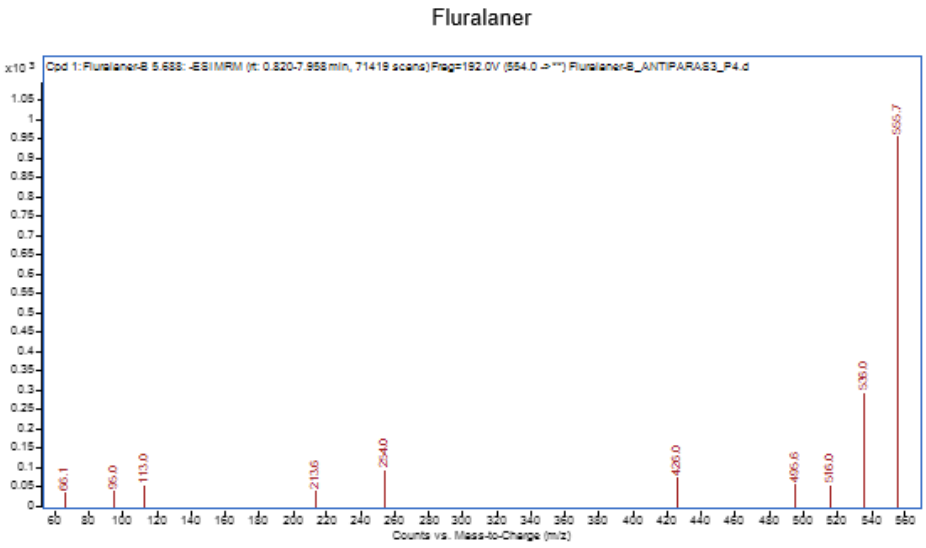
Chaque ion créé et détecté suite au passage par la cellule de collision est matérialisé sous forme d'un pic (plus ou moins haut selon sa quantité) sur le spectrogramme ainsi obtenu (Figure 42), en fonction de son rapport masse/charge *(Grebe et Singh 2011; Vogeser et Parhofer 2007)*.

Les transitions MRM retenues en polarité négative pour la quantification des composés sont 554 → 536 (m/z) et 594 → 181 (m/z) pour le fluralaner et le lotilaner respectivement. Les autres transitions sont utilisées pour la qualification des composés. Les paramètres de quantification et de qualification des composés ainsi que les valeurs de fragmentation et de collision sont récapitulés dans le Tableau XVIII ci-dessous.

Tableau XVIII - Paramètres étudiés dans les processus de fragmentation des ions pour le fluralaner et le lotilaner dans le spectromètre de masse

	Temps de rétention[29]	Ion précurseur	Ions produits	Dwell Time[30]	Frag (V)[31]	CE (V)[32]	Polarité
Fluralaner	5.36	554.0	536 496 426	50	192	16 24 24	négative
Lotilaner	6.33	594.0	181 575.8 161	50	218	21 17 29	négative

[29] Temps écoulé entre le moment de l'injection et le signal maximal du composé
[30] Temps nécessaire pour enregistrer une transition MRM
[31] *Fragmentor Voltage* : contrôle la vitesse de passage des ions dans la cellule de collision
[32] *Collision Energy* = énergie de collision



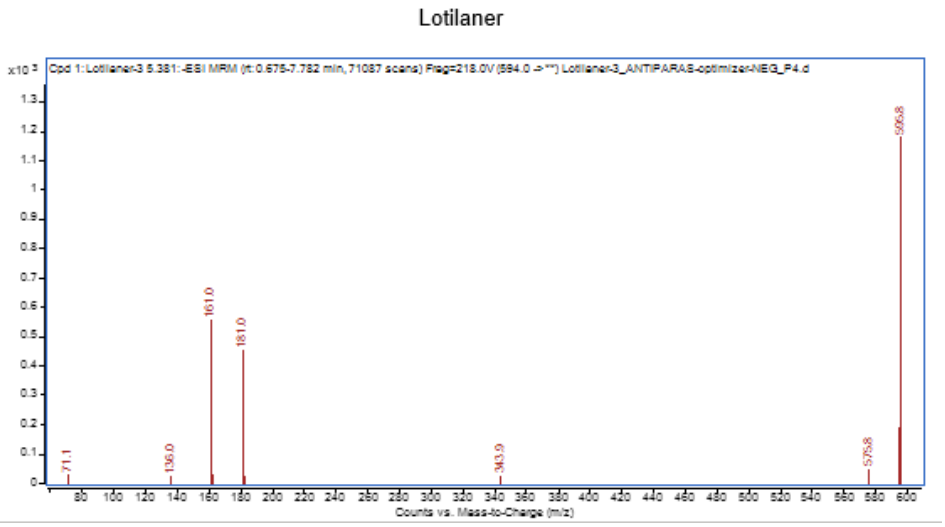


Figure 42 - Spectres de masse du fluralaner et du lotilaner

Les masses molaires respectives du fluralaner et du lotilaner sont de 556,3 g/mol et 596,8 g/mol (PubChem s. d.).

5. Construction de courbes étalon et régressions linéaires

La linéarité ayant été validée, des courbes de régression linéaire ont pu être tracées et servir de base à l'obtention des concentrations en fluralaner dans les échantillons étudiés (Figure 43).

Que ce soit pour la gamme étalon ou la gamme fèces testée, le coefficient de détermination de Pearson r^2 est très proche de 1, ce qui montre l'adéquation entre le modèle utilisé et les données observées.

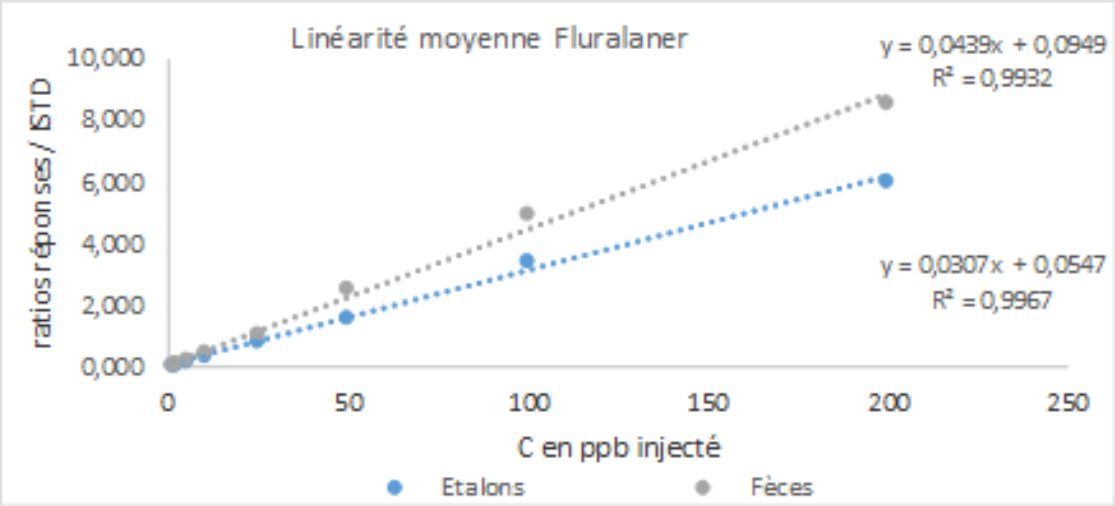


Figure 43 - Courbes de régression linéaire utilisées pour les gammes « étalons » et « fèces » lors de la validation du protocole

Pour lire la concentration correspondante en fluralaner dans l'échantillon, il suffit alors d'utiliser l'équation $x = \frac{y-b}{a}$.

III. Résultats de l'étude

L'ensemble des résultats de l'étude est rassemblé en Annexe 3.
La modélisation des courbes de tendance ainsi que les valeurs pharmacocinétiques associées ont été calculées à l'aide de l'add-in « PK Solver » intégré au logiciel de traitement de données Microsoft Excel. L'efficacité de ce module a été comparée au logiciel WinNonlin, utilisé dans les études de *Kilp et al.* sur la pharmacocinétique du fluralaner chez les chiens et les chats et les paramètres estimés par le logiciel sont satisfaisants *(Zhang et al. 2010)*. La méthode d'analyse quantitative choisie est l'analyse non-compartimentale.

a. Concentrations moyennes de fluralaner après traitement chez les caniformes

La Figure 44 ci-dessous représente l'évolution de la concentration en fluralaner dans les fèces après traitement chez trois des quatre espèces étudiées de caniformes sauvages : le coati roux, le loup ibérique et la loutre d'Europe. Les mesures faites chez le chien des buissons n'ont pas révélé la présence de fluralaner au-delà de la limite de détection pour pouvoir être représentées.

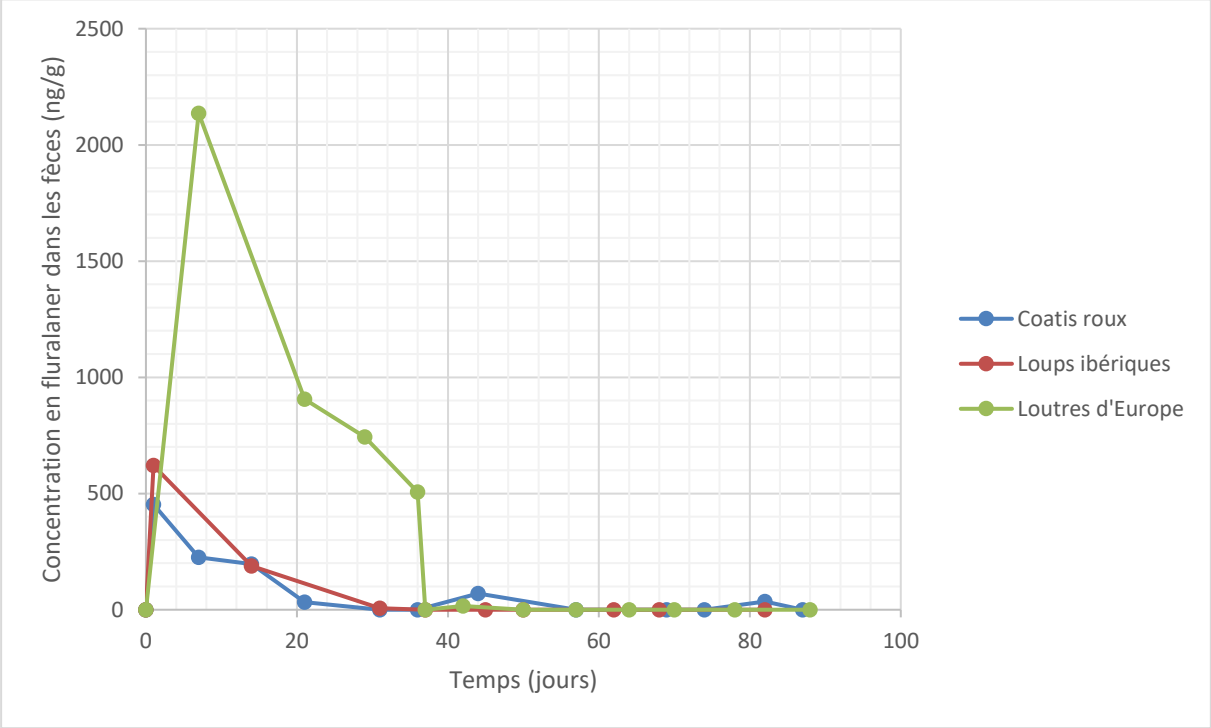


Figure 44 - Concentration en fluralaner dans les fèces après une administration unique par voie orale chez les caniformes sauvages

Les valeurs en-dessous de la limite de détection (1,6 ng/g) ont été fixées à zéro.

On remarque que la concentration en fluralaner dans les fèces a rapidement atteint un pic entre les jours 1 chez le loup ibérique et le coati roux et 7 chez la loutre après traitement puis a décliné rapidement dans les jours qui ont suivi. La

concentration avait diminué de moitié au bout du 2ème jour chez la loutre et du 5ème jour chez le loup ibérique. Les mesures révèlent des valeurs globalement peu élevées de fluralaner 30 jours après traitement. Les concentrations maximales atteintes étaient comprises entre 453 et 2137 ng/g et le temps de résidence moyen du produit variait de 6 à 38 jours.
Les valeurs pharmacocinétiques associées sont présentées dans le Tableau XIX ci-dessous.

Tableau XIX - Paramètres pharmacocinétiques fécaux du fluralaner chez les caniformes sauvages suite à une unique administration par voie orale

Paramètres	*Loup ibérique (n=1)*	*Loutre d'Europe (n=1)*	*Coati roux (n=1)*
C_{max} *(ng/g)*	620	2137	453
t_{max} *(jours)*	1	7	1
$AUC_{(J0-J112)}$ *(jour*ng/g)*	7218	41301	7688
$AUC_{(0\rightarrow\infty)}$ *(jour*ng/g)*	7260	41354	8998
$t_{1/2}$ *(jours)*	5	2	26
MRT (jours)	6	16	38
Cl (L/kg/jour)	n/a[33]	n/a	n/a
V_z *(L/kg)*	n/a	n/a	n/a

[33] Non applicable, *no answer*

b. *Concentrations moyennes de fluralaner après traitement chez les féliformes*

Les Figure 45 et Figure 46 montrent l'évolution de la concentration en fluralaner dans les fèces après une administration unique par voie orale chez des féliformes sauvages. Les graphes concernant le suricate et le fossa n'ont volontairement pas été représentées par manque de lisibilité.

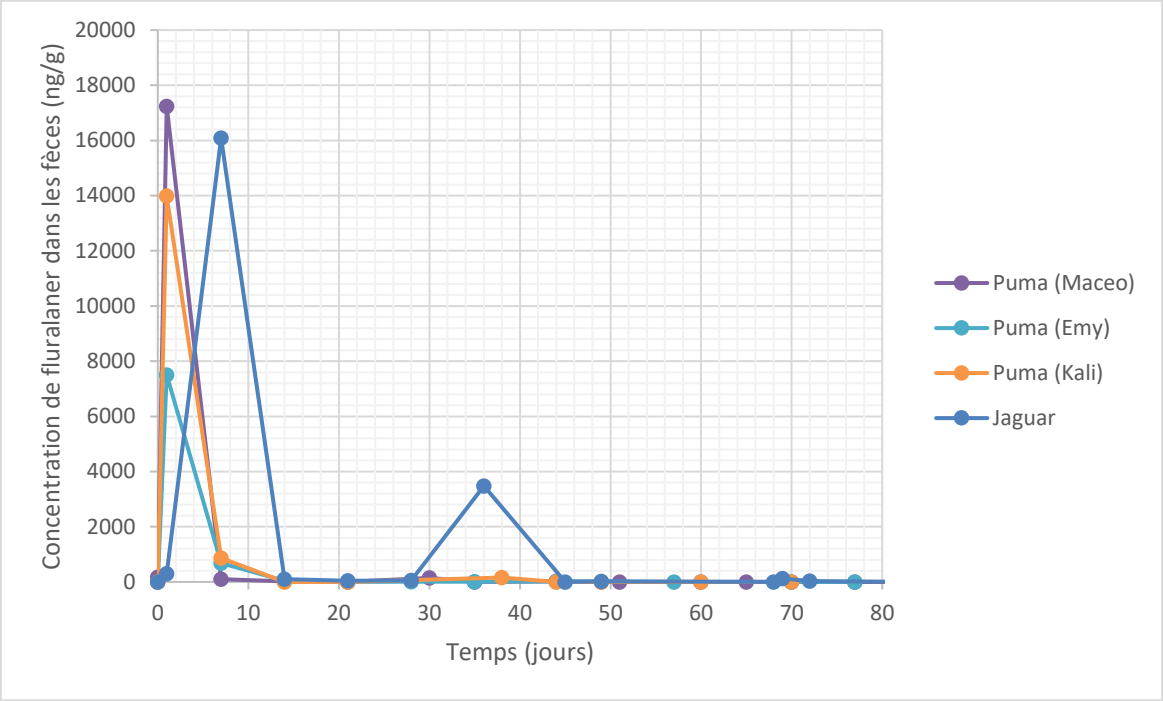


Figure 45 - Concentration en fluralaner dans les fèces après une administration unique par voie orale chez le puma et le jaguar

Les valeurs en-dessous de la limite de détection (1,6 ng/g) ont été fixées à zéro.

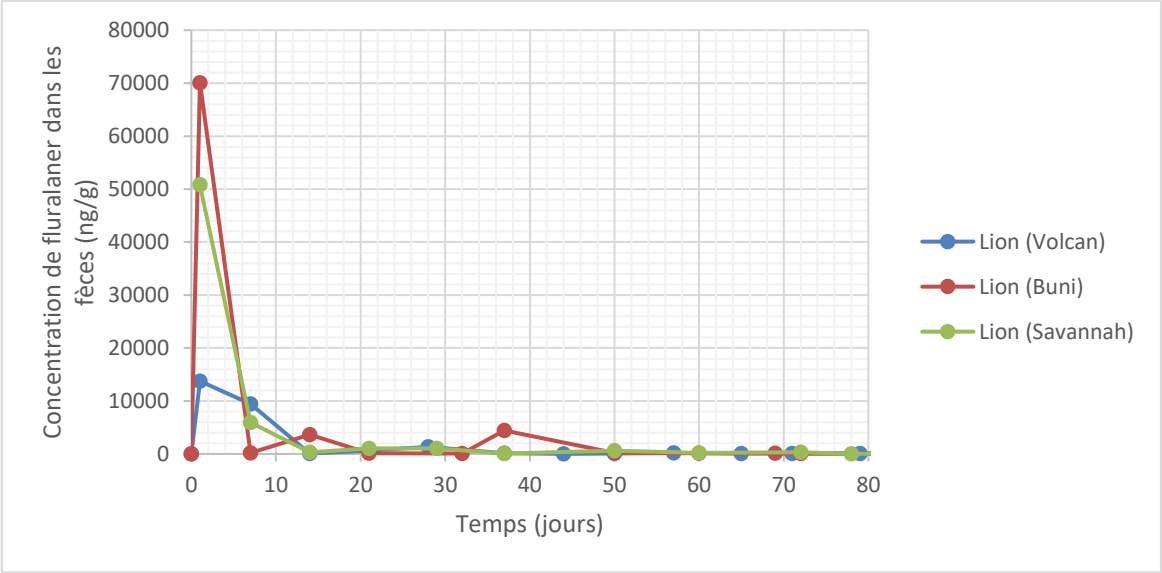


Figure 46 - Concentration en fluralaner dans les fèces après une administration unique par voie orale chez le lion de l'Atlas

Les valeurs en-dessous de la limite de détection (1,6 ng/g) ont été fixées à zéro.

Chez le puma, la concentration maximale a été atteinte en un jour comme chez le lion de l'Atlas et le fossa. Cependant, pour ce dernier, la valeur de la C_{max} était excessivement élevée, atteignant 8 fois la C_{max} du lion de l'Atlas et 28 fois celle du puma. Le temps de résidence moyen du produit était quasiment 3 fois plus élevé chez le lion de l'Atlas que chez le puma. Au bout d'environ 15 jours, les concentrations de fluralaner dans les fèces sont descendues en-dessous de 100 ng/g, si on excepte quelques valeurs rebond observées entre 30 et 40 jours chez le jaguar et quelques lions de l'Atlas.
Les concentrations chez le suricate étaient extrêmement faibles, elles s'échelonnaient entre 7 et 15 ng/g et ont été relevées les 15 premiers jours. Ensuite, les concentrations mesurées étaient en-dessous de la limite de détection.
Les valeurs pharmacocinétiques associées à ces mesures sont présentées dans le Tableau XX ci-dessous.

Tableau XX - Paramètres pharmacocinétiques fécaux du fluralaner chez les féliformes sauvages suite à une unique administration par voie orale

Paramètres	*Fossa (n=1)*	*Lion de l'Atlas (n=3)*	*Puma (n=3)*	*Jaguar (n=1)*	*Suricate (n=1)*
C_{max} *(ng/g)*	370295	44880 ± 28616	12909 ± 4954	16089	15
t_{max} *(jours)*	1	1	1	7	14
$AUC_{(J0-J112)}$ *(jour*ng/g)*	1373277	232796 ± 95614	54158 ± 19755	145337	105
$AUC_{(0\rightarrow\infty)}$ *(jour*ng/g)*	1373579	234203 ± 95339	54786 ± 20347	145752	— [34]
$t_{1/2}$ *(jours)*	3	12 ± 1	6 ± 1	8	—
MRT (jours)	1	8 ± 1	3 ± 1	15	—
Cl (L/kg/jour)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
V_z *(L/kg)*	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

[34] Non calculé

IV. Discussion

a. *Interprétation des résultats*

À propos des caniformes, les concentrations de fluralaner ont décliné rapidement, suggérant une élimination rapide du produit dans les fèces et donc une cinétique rapide. En un mois, la quasi-totalité du produit n'est plus quantifiée dans les fèces, alors que chez le chien, le produit est encore mesuré à des concentrations relativement élevées dans le sang *(Kilp et al. 2014a).*
Chez la loutre d'Europe en particulier, la concentration maximale est plus élevée que chez le loup ibérique et le coati roux, suggérant une absorption moins importante du fluralaner. Elle ne semble pas proportionnelle à la dose : la C_{max} pour la loutre d'Europe est 3 fois plus grande que celle pour le loup ibérique, elle-même 1,3 fois plus grande que celle pour le coati roux alors que la dose administrée est plus importante chez le coati roux que chez la loutre et le loup ibérique.
La durée d'élimination du produit chez les caniformes sauvages n'excède pas un mois pour la plupart des espèces. Toutefois, des traces de fluralaner ont été relevées chez le coati roux à de faibles concentrations au bout de 44 jours (69 ng/g) et 82 jours (35 ng/g) après traitement. Plusieurs raisons peuvent expliquer la présence de ces traces si disparates : une variabilité des échantillons due à une mauvaise homogénéisation des échantillons ou biais de collecte (développés ci-après), un effet rebond[35], voire de la coprophagie « involontaire », dans la mesure où les coatis roux creusent perpétuellement dans le sol et ingèrent donc tout ce qui y est lessivé. Ceci pourrait expliquer également le fait que les concentrations en fluralaner chez le chien des buissons sont aussi peu abondantes, les deux espèces cohabitant dans le même enclos. Par ailleurs, la limite de détection choisie pour les besoins des analyses de laboratoire (1,6 ng/g) fait qu'on ne peut pas exclure la présence de traces de fluralaner pendant toute la durée de l'étude.
Si l'on se fie aux résultats présentés ci-dessus, il y aurait ainsi nécessité d'administrer le BRAVECTO® plus souvent que chez le chien et le chat afin d'assurer une protection efficace contre les puces et les tiques.

Chez les féliformes, on remarque que les concentrations sont relativement plus élevées que chez les caniformes (d'un facteur 10 à 100). Ainsi, les biodisponibilités relatives du fluralaner (à doses quasiment identiques) sont globalement plus faibles chez les féliformes que les caniformes sauvages, et respectivement plus faibles chez les carnivores sauvages que chez les carnivores domestiques *(Kilp et al. 2014b)*.
Chez le fossa, la concentration maximale est très nettement supérieure aux autres. Du fluralaner a été également dosé chez l'individu-témoin qui n'avait pourtant reçu aucun traitement antiparasitaire au préalable, ceci pouvant s'expliquer par des biais de collecte des échantillons. Il ne semble pas y avoir de relation proportionnelle entre la

[35] Pour des produits dont l'élimination est principalement hépatique, des processus d'hydrolyse peuvent avoir lieu, redonnant naissance à la molécule initiale qui est alors réexcrétée si elle n'est pas réabsorbée, c'est un effet rebond qui se manifeste par de nouveaux pics plasmatiques (et éventuellement fécaux dans notre cas).

dose et les C_{max} comme pour les caniformes (la C_{max} pour le suricate est la plus faible, bien que la dose administrée soit la plus élevée parmi les espèces étudiées).
Globalement, la rémanence du fluralaner chez les féliformes sauvages ne semble pas excéder un mois, sauf pour le lion de l'Atlas chez lequel des concentrations supérieures à 100 ng/g sont mesurées jusqu'à 3 mois après traitement. Des traces de fluralaner sont observées chez le jaguar jusqu'au 72ème jour après administration de BRAVECTO® et chez le puma jusqu'au 49ème jour.

La Figure 47 représente le jour maximal pour lequel des traces de fluralaner à une concentration supérieure à la LOD ont été relevées chez les espèces de l'étude.

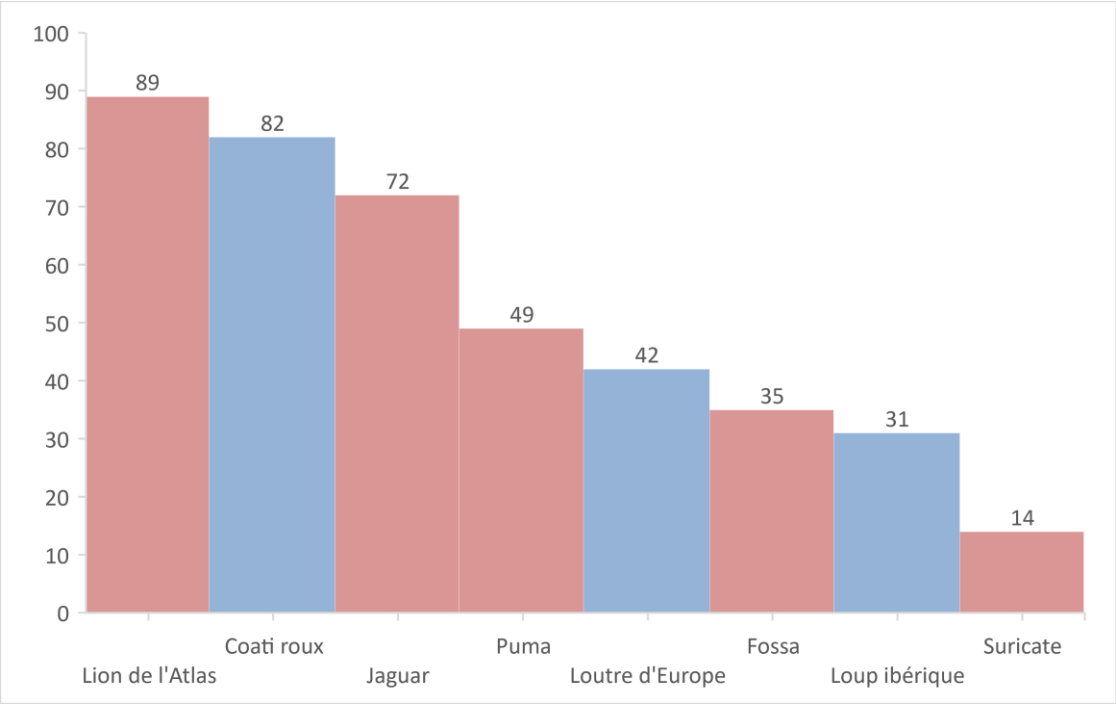


Figure 47 – Jour maximal pour lequel a été dosé le fluralaner à une concentration supérieure à la limite de détection

En rouge, les espèces appartenant au sous-ordre des féliformes ; en bleu, les espèces appartenant au sous-ordre des caniformes

Une nouvelle étude parue en novembre 2020 apporte des données supplémentaires sur la pharmacocinétique du fluralaner en faune sauvage. Une analyse a été lancée sur 10 ours noirs en bonne santé après une administration unique par voie orale de fluralaner à une dose de 25 mg/kg. En particulier, les résultats montrent que le temps de demi-vie plasmatique chez l'ours noir était de 4,9 jours, soit environ 7 jours de moins que chez le chien pour cette même posologie *(Wick et al. 2020)*.

b. Limites, biais de l'étude et perspectives

De nombreux biais peuvent être soulignés lors de la réalisation de cette étude pilote. Le moment d'administration a une influence non négligeable sur la biodisponibilité du produit. Une étude a montré que chez les carnivores domestiques, la biodisponibilité du fluralaner était plus que doublée lorsque le comprimé était administré 15 minutes avant le repas et pendant le repas par rapport à des chiens qui ne mangeaient pas au moment de la prise et pendant 8 heures après l'administration *(F. Walther et al. 2014)*.
Dans le cadre de notre étude et pour limiter les biais liés à **l'influence de la prise alimentaire** sur la biodisponibilité du fluralaner, l'ensemble des individus de l'étude a reçu le médicament BRAVECTO® pendant un repas, selon les recommandations du RCP (*MSD, 2015*).

D'autres facteurs pouvant influencer sur la biodisponibilité d'un principe actif, tels que le pH gastro-intestinal, une altération de la fonction hépatique (dépendante de l'âge ou d'une pathologie de l'individu), le sexe, le transit intestinal ou encore le rythme circadien (*Sabnis 1999*), n'ont pour l'instant pas été évalués pour le fluralaner.

Des biais de collecte sont à relever :

- L'équipe soigneuse étant différente d'un jour à l'autre, il peut exister **un biais de suivi** dépendant de l'opérateur lors du prélèvement des fèces ;
- Les individus étant le plus souvent dans le même enclos, il est difficile de discerner les fèces de chacun. Cela pourrait en partie expliquer pourquoi des traces de fluralaner sont retrouvés chez des individus-témoin. Un essai de coloration des fèces par la prise de colorants alimentaires, déjà testé dans des zoos nord-américains, a été mis en place au Parc Zoologique de Paris pour faciliter l'identification des échantillons sur les coatis roux, les suricates et les chiens des buissons *(Fuller, Margulis, et Santymire 2011)* avec des résultats mitigés : certaines semaines, les fèces différentes étaient plus difficiles à discerner (les colorants verts et bleus ayant moyennement fonctionné) ;
- La répartition du produit dans les fèces n'étant pas homogène, il peut y avoir un **biais de sélection** de l'échantillon. Pour limiter celui-ci, il a été spécifié dans le protocole de bien homogénéiser l'échantillon après prélèvement. Cette mesure a été répétée lors de la réception des échantillons en laboratoire avant extraction du produit.
- La **quantité de matières fécales émises** est très variable d'une espèce à l'autre, d'un jour à l'autre et d'un individu à l'autre, ce qui peut être à l'origine d'une forte variabilité des résultats.
- Visuellement, on a pu constater **une forte hétérogénéité dans la composition des fèces** prélevées (parfois beaucoup de poils, parfois de la terre…), résultat des conditions de collecte, des conditions de vie des animaux et source de variabilité supplémentaire. Pour les selles

ramassées dehors, on ne peut pas exclure une contamination via le sol qui serait déjà imprégné de fluralaner par les selles précédentes des animaux traités.

Une instabilité des échantillons entre leur prélèvement et leur analyse est possible.
Pour contrer cela, une conservation stricte des échantillons prélevés à température négative a été instaurée sur place, pendant le transport et à réception au laboratoire.

Au laboratoire, des interférences étaient possibles entre le produit et une autre substance de la matrice.
L'effet matrice était important (environ 43 %) dans les fèces ce qui a nécessité la mise en place d'une gamme étalonnage avec étalon interne à partir de la matrice d'un animal non traité.

L'étude réalisée ici ne peut donner de résultats concernant le volume de distribution apparent et la clairance plasmatique totale, la voie d'administration utilisée étant la voie orale et les échantillons analysés étant uniquement fécaux *(Kilp et al. 2014a)*. D'autres études pourraient être mises en place afin d'évaluer ces paramètres, mais il reste difficile d'obtenir de tels résultats en parc zoologique, là où des prélèvements sanguins seraient régulièrement nécessaires sur des espèces parfois dangereuses et moins facilement manipulables sans une sédation préalable.
Des travaux ont permis une meilleure approche de certains animaux pour la réalisation de gestes techniques récurrents, tels que des analyses d'urine, des examens d'imagerie médicale ou encore des prises de sang qui pourraient permettre, dans le cadre d'analyses pharmacologiques par exemple, de s'affranchir des biais de mesure rencontrés lors de prélèvements fécaux *(Frédérique s. d.; Le puma s. d.)*.
Au Parc Zoologique de Paris, des prises de sang sont possibles sur deux des quatre pumas qui sont tous aussi entraînés aux injections par voie intra-musculaire, au spray et à l'examen cutané (possibilité d'appliquer des *spot-on*). Il s'agit de renforcement positif en contact protégé[36].

Un point important à discuter est celui de la **toxicité environnementale** qui est non négligeable pour le BRAVECTO® (voir partie *II.b.iv*. sur l'écotoxicité du fluralaner). La demi-vie du fluralaner dans les sols en milieu aérobie est de 60 jours, or la rémanence du produit étant d'environ au moins 1 mois chez les carnivores sauvages, cela signifie que des traces peuvent être retrouvées dans les sols pendant au moins 90 jours après l'administration du médicament (*MSD, 2015*). Les données collectées montrent que certains individus peuvent excréter le fluralaner pendant près de 3 mois, ce qui n'est pas négligeable, compte tenu de la persistance de la substance et son profil écotoxicologique. Au-delà de l'utilisation en parc zoologique, cette donnée

[36] Ceci permet de maintenir une sécurité pour l'équipe tout en conservant l'espace personnel de l'Homme et de l'animal.

suggère, *a minima*, que l'utilisation chez des carnivores peut être à l'origine d'une contamination prolongée de l'environnement au travers de l'élimination fécale d'une substance non modifiée et active.
Selon l'efficacité du produit sur les carnivores sauvages, la fréquence d'administration est à adapter pour prendre en compte ces risques environnementaux liés à l'élimination du produit.
Concernant la toxicité du produit pour l'animal, aucun effet indésirable n'a été détecté durant l'étude. Le BRAVECTO® semble aussi bien toléré chez ces espèces de carnivores sauvages *(F. M. Walther, Paul, et al. 2014)*.

D'autres pistes peuvent être envisagées pour dégager davantage d'informations concernant le fluralaner chez les carnivores sauvages : une évaluation des profils pharmacocinétiques fécaux chez le chien et le chat pourrait être intéressante à mettre en place afin de les comparer plus aisément avec les résultats obtenus en faune sauvage.
Également, cette étude s'articulait principalement autour de la rémanence du fluralaner, soit la persistance de son action après administration, en comparaison aux données existantes chez le chien et le chat, mais elle n'évalue pas précisément l'efficacité du produit contre les parasites externes étudiés, qui serait un axe intéressant à développer *(Michael W Dryden et al. 2015; Toyota et al. 2019)*. Pour autant, au vu des temps de demi-vie d'élimination des féliformes et caniformes sauvages qui semblaient plus faibles que ceux du chat et du chien (à l'exception du coati roux), une efficacité moindre du produit en faune sauvage par rapport aux carnivores domestiques est possible.
Une étude de 2021 portant sur le traitement de la gale sarcopique chez le wombat commun (*Vombatus ursinus*) a d'ores et déjà montré que le fluralaner était sûr et efficace et présentait de nombreux avantages par rapport aux lactones macrocycliques : son efficacité serait plus rapide et plus longue et le traitement plus facile et moins cher *(Wilkinson et al. 2021)*.
À l'inverse, une autre étude de 2021 a montré un échec thérapeutique du BRAVECTO® (et d'autres molécules comme l'ivermectine) pour le traitement de la gale psoroptique chez les lémurs cattas. Seul l'amitraze a fonctionné.

Conclusion

Dans un contexte de gestion croissante du parasitisme externe chez les animaux de compagnie, une nouvelle classe de molécules a vu le jour, les isoxazolines, dont fait partie le fluralaner. Les études menées en 2014 et 2016 ont montré que les paramètres pharmacocinétiques du fluralaner chez les carnivores domestiques étaient compatibles avec son activité prolongée contre les puces et les tiques.

Les enjeux actuels de conservation des espèces sauvages captives impliquant, entre autres, un bon maintien sanitaire de leurs individus, ont contribué à la naissance de ce projet d'étude de la pharmacocinétique du fluralaner chez des carnivores sauvages en parc zoologique. En plus de pallier le manque de données à ce sujet, il permettait de faire écho aux ressources bibliographiques pour mieux approfondir la biologie des espèces étudiées.

Les résultats de l'étude menée en collaboration avec le Parc Zoologique de Paris montrent que le fluralaner semble avoir une cinétique plus rapide chez les carnivores sauvages que chez les carnivores domestiques, la rémanence du produit excédant rarement un mois, sauf chez quelques espèces telles que le lion de l'Atlas ou le coati roux où des traces sont encore retrouvées plus de 2 mois après administration. Certains résultats ont pu soulever de nouvelles hypothèses telles que des comportements coprophages chez le fossa. Ces tendances sont toutefois nuancées par de nombreux biais qui résultent, pour la plupart, de contraintes liées à l'obtention d'échantillons en parc zoologique et à l'extraction et la détection complexes du principe actif qui en découlent en laboratoire.

Il reste par ailleurs pertinent d'avancer que cette gestion du parasitisme externe en parc zoologique va de pair avec les problématiques environnementales qui font partie des enjeux actuels du maintien de la biodiversité. De nombreuses questions surgissent alors, liant bénéfice du patient et risque pour le milieu de vie en faune sauvage, et mettent en exergue le principe d'une utilisation raisonnée des antiparasitaires vétérinaires, comme déjà avancé dans le cadre des anthelminthorésistances par exemple. Ainsi, d'autres études pourraient voir le jour pour explorer l'efficacité d'une telle molécule dans le traitement des ectoparasites en faune sauvage et apporter des réponses plus poussées sur l'intérêt d'une telle pratique en médecine zoologique.

Références bibliographiques

André, M. R. et al. 2012. « Molecular Detection of Tick-Borne Bacterial Agents in Brazilian and Exotic Captive Carnivores ». *Ticks and Tick-borne Diseases* 3(4): 247-53.

Arrais, Ricardo C. et al. 2021. « Survey of Ticks and Tick-Borne Agents in Maned Wolves (Chrysocyon Brachyurus) from a Natural Landscape in Brazil ». *Ticks and Tick-Borne Diseases* 12(2): 101639.

Aubry, P., et D. W. Geale. 2011. « A Review of Bovine Anaplasmosis ». *Transboundary and Emerging Diseases* 58(1): 1-30.

Aulagnier, Stéphane et al. 2010. *Guide des mammifères d'Europe, d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient*. Paris, France: Delachaux et Niestlé.

Baker, Rollin H. 1983. *Michigan Mammals*. East Lansing]; Detroit, Mich.: Michigan State University Press ; Distributed by Wayne State University Press.

Bateman, Andrew W. et al. 2015. « Territoriality and Home-Range Dynamics in Meerkats, Suricata Suricatta: A Mechanistic Modelling Approach ». *The Journal of Animal Ecology* 84(1): 260-71.

Benet, L. Z., et P. Zia-Amirhosseini. 1995. « Basic Principles of Pharmacokinetics ». *Toxicologic Pathology* 23(2): 115-23.

Betancur H, Oscar, Antonio Betancourt E, et Cristian Giraldo R. 2015. « Importance of Ticks in the Transmission of Zoonotic Agents ». *Revista MVZ Córdoba* 20: 5053-67.

Bitam, Idir et al. 2010a. « Fleas and Flea-Borne Diseases ». *International Journal of Infectious Diseases* 14(8): e667-76.

———. 2010b. « Fleas and Flea-Borne Diseases ». *International Journal of Infectious Diseases* 14(8): e667-76.

Black, Simon A., Amina Fellous, Nobuyuki Yamaguchi, et David L. Roberts. 2013. « Examining the Extinction of the Barbary Lion and Its Implications for Felid Conservation ». *PLoS ONE* 8(4): e60174.

Black, Simon, Nobuyuki Yamaguchi, Adrian Harland, et Jim Groombridge. 2010. « Maintaining the genetic health of putative Barbary lions in captivity: An analysis of Moroccan Royal Lions ». *European Journal of Wildlife Research* 56: 21-31.

Brody, Samuel, et Henry A. Lardy. 1946. « Bioenergetics and Growth. » *The Journal of Physical Chemistry* 50(2): 168-69.

Bush, A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz, et A. W. Shostak. 1997. « Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited ». *The Journal of Parasitology* 83(4): 575-83.

« Canis lupus Linnaeus, 1758 - Loup gris, Loup ». *Inventaire National du Patrimoine Naturel*. https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/60577 (19 septembre 2021).

Cassar, Valentin. 2020. *Le fluralaner comme traitement antiparasitaire chez 6 espèces carnivores en parc zoologique: étude bibliographique et mise en place d'une étude*

pilote.

« CatSG: Jaguar ». http://www.catsg.org/catsgportal/cat-website/20_cat-website/home/index.php?id=95 (19 septembre 2021).

CENDRA, Christelle. 2012. « EXTRAPOLATION DES DOSES INTER-ESPECES : EXEMPLE DES ANTIPARASITAIRES DIGESTIFS UTILISES CHEZ LES FELIDES SAUVAGES ». Theses. Université de Paris-Sud. Faculté de Pharmacie (Châtenay-Malabry, Hauts de Seine). https://hal.archives-ouvertes.fr/tel-01083771 (14 juillet 2021).

Chmelar, Jindrich et al. 2012. « Tick Salivary Secretion as a Source of Antihemostatics ». *Journal of Proteomics* 75(13): 3842-54.

Christian, Axel. 2012. « Tick infestation (Ixodes) on the Eurasian Otter (Lutra lutra)–a long-term study ». *Soil Org* 84: 481-87.

Commission Implementing Regulation (EU) 2016/1141 of 13 July 2016 Adopting a List of Invasive Alien Species of Union Concern Pursuant to Regulation (EU) No 1143/2014 of the European Parliament and of the Council. 2016. 189 OJ L (COM) http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2016/1141/oj/eng (9 décembre 2021).

« Cryptoprocta ferox (Fosa) ». https://www.iucnredlist.org/species/5760/45197189 (18 septembre 2021).

Currier, Mary Jean P. 1983. « Felis concolor ». *Mammalian Species* (200): 1-7.

Dobler, Gerhard, et Martin Pfeffer. 2011. « Fleas as Parasites of the Family Canidae ». *Parasites & Vectors* 4(1): 139.

Domínguez-Peñafiel, G., C. Giménez-Pardo, M.I. Gegúndez, et L. Lledó. 2011. « Prevalence of ectoparasitic arthropods on wild animals and cattle in the Las Merindades area (Burgos, Spain) ». *Parasite : journal de la Société Française de Parasitologie* 18(3): 251-60.

Dorst, Jean, et Pierre Dandelot. 1972. *A field guide to the larger mammals of Africa*. London, Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord: Collins.

Dorst, Jean, Pierre Dandelot, et Solange Favarger. 1976. *Guide des grands mammifères d'Afrique*. Neuchâtel, Suisse.

Dryden, M. W., et S. M. Gaafar. 1991. « Blood Consumption by the Cat Flea, Ctenocephalides Felis (Siphonaptera: Pulicidae) ». *Journal of Medical Entomology* 28(3): 394-400.

Dryden, Michael W et al. 2015. « Efficacy of Fluralaner Flavored Chews (Bravecto®) Administered to Dogs against the Adult Cat Flea, Ctenocephalides Felis Felis and Egg Production ». *Parasites & Vectors* 8(1): 364.

Durden, Lance A., Mark W. Cunningham, Rocky McBride, et Bambi Ferree. 2006. « Ectoparasites of Free-Ranging Pumas and Jaguars in the Paraguayan Chaco ». *Veterinary Parasitology* 137(1): 189-93.

Durden, Lance A., et Nancy C. Hinkle. 2019. « Chapter 10 - Fleas (Siphonaptera) ». In *Medical and Veterinary Entomology (Third Edition)*, éd. Gary R. Mullen et Lance A.

Durden. Academic Press, 145-69. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128140437000108 (3 décembre 2021).

Ernest, S. K. Morgan. 2003. « Life History Characteristics of Placental Nonvolant Mammals ». *Ecology* 84(12): 3402-3402.

Estevam, L. G. T. M. et al. 2020. « Seven Years of Evaluation of Ectoparasites and Vector-Borne Pathogens among Ring-Tailed Coatis in an Urban Park in Southeastern Brazil ». *Veterinary Parasitology, Regional Studies and Reports* 21: 100442.

Estrada-Peña, A. 2015a. « Ticks as Vectors: Taxonomy, Biology and Ecology ». *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)* 34(1): 53-65.

———. 2015b. « Ticks as Vectors: Taxonomy, Biology and Ecology ». *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)* 34(1): 53-65.

Estrada-Peña, Agustín, Ali Bouattour, JL Camicas, et Alan Walker. 2004. *Tiques d'importance médicale et vétérinaire: le bassin méditerranéen. ICTTD CD-ROM, Mediterraneans ticks. 3-12, 12.*

Estrada-Peña, Agustin, et Natalia Fernández-Ruiz. 2020. « A Retrospective Assessment of Temperature Trends in Northern Europe Reveals a Deep Impact on the Life Cycle of Ixodes Ricinus (Acari: Ixodidae) ». *Pathogens (Basel, Switzerland)* 9(5): E345.

Farris, Z. J. et al. 2015. « When Carnivores Roam: Temporal Patterns and Overlap among Madagascar's Native and Exotic Carnivores: Activity Patterns of Madagascar's Carnivore Community ». *Journal of Zoology* 296(1): 45-57.

Frédérique, Morcel. « L' entraînement médical chez les animaux de parcs zoologiques : application chez l'éléphant d'Afrique (loxodonta africana) ». : 95.

Fuller, Grace, Susan W. Margulis, et Rachel Santymire. 2011. « The Effectiveness of Indigestible Markers for Identifying Individual Animal Feces and Their Prevalence of Use in North American Zoos ». *Zoo Biology* 30(4): 379-98.

Gaens, Daniela et al. 2019. « Suspected Neurological Toxicity after Oral Application of Fluralaner (Bravecto®) in a Kooikerhondje Dog ». *BMC veterinary research* 15(1): 283.

Gayle, Andy, et Erika N. Ringdahl. 2001. « Tick-borne Diseases ». *American Family Physician* 64(3): 461.

Gompper, Matthew E., et Denise M. Decker. 1998. « Nasua nasua ». *Mammalian Species* (580): 1-9.

Gonçalves, Itamar Luís et al. 2021. « Discovery, Development, Chemical Diversity and Design of Isoxazoline-Based Insecticides ». *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 30: 115934.

Gonzalez, Irys Hany Lima et al. 2017. « Ticks Infesting Captive and Free-Roaming Wild Animal Species at the São Paulo Zoo, São Paulo, Brazil ». *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology: Orgao Oficial Do Colegio Brasileiro De Parasitologia Veterinaria* 26(4): 496-99.

Grebe, Stefan KG, et Ravinder J Singh. 2011. « LC-MS/MS in the Clinical Laboratory – Where to From Here? » *The Clinical Biochemist Reviews* 32(1): 5-31.

Gritsun, T. S., V. A. Lashkevich, et E. A. Gould. 2003. « Tick-Borne Encephalitis ». *Antiviral Research* 57(1-2): 129-46.

Group), Emmanuel Do Linh San (IUCN SSC Small Carnivore Specialist, et Neil Jordan. 2015. « IUCN Red List of Threatened Species: Suricata suricatta ». *IUCN Red List of Threatened Species*. https://www.iucnredlist.org/en (18 septembre 2021).

Guedes, Elizângela et al. 2005. « Detection of Rickettsia Rickettsii in the Tick Amblyomma Cajennense in a New Brazilian Spotted Fever-Endemic Area in the State of Minas Gerais ». *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 100: 841-45.

« Guide de validation des méthodes d'analyses des laboratoires de référence | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail ». https://www.anses.fr/fr/content/guide-de-validation-des-m%C3%A9thodes-danalyses-des-laboratoires-de-r%C3%A9f%C3%A9rence (29 mai 2021).

Hainard, Robert. 1989. *Mammifères sauvages d'Europe*. Neuchâtel, France, France.

Hainsworth, F. Reed. 1981. *Animal Physiology : Adaptations in Function*. Reading, Mass. : Addison-Wesley. http://archive.org/details/animalphysiology00hain (14 juillet 2021).

Hall, E. Raymond. 1981. *The Mammals of North America*. New York: Wiley.

Haltenorth, Theodor, et Helmut Diller. 1980. *A field guide to the mammals of Africa including Madagascar*. London, Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord: Collins.

Hastriter, Michael. 2000. « Echidnophaga suricatta (Siphonaptera: Pulicidae), a new species of flea from the Northern Cape Province, South Africa ». *African Zoology* 35: 77-83.

Herman, Timothy F., et Cynthia Santos. 2021. « First Pass Effect ». In *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551679/ (5 octobre 2021).

Hodžić, Adnan et al. 2020. « Molecular Survey of Tick-Borne Pathogens Reveals a High Prevalence and Low Genetic Variability of Hepatozoon Canis in Free-Ranging Grey Wolves (Canis Lupus) in Germany ». *Ticks and Tick-Borne Diseases* 11(3): 101389.

Horak, Ivan, Jean Beaucournu, et Lawrence Braack. 2004. « Parasites of domestic and wild animals in South Africa. XLIV. Fleas (Insecta: Siphonaptera: Pulicidae) collected from 15 carnivore species ». *The Onderstepoort journal of veterinary research* 71: 9-14.

Hyun, Jae-Eun, Hyun-Kyu Jang, Cheol-Yong Hwang, et Seong-Chan Yeon. 2019. « Clinical Efficacy of Orally Administered Fluralaner for Treatment of Scabies in Six Free-Ranging Raccoon Dogs (Nyctereutes Procyonoides) ». *Veterinary Dermatology* 30(3): 267-e81.

Iannino. 2017. « Fleas of Dog and Cat: Species, Biology and Flea-Borne Diseases ». *Veterinaria Italiana* 53(4): 273-75.

« ITIS - Report: Procyonidae ». https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180573#null (19 septembre 2021).

Jara, Rocio F., Adrian P. Wydeven, et Michael D. Samuel. 2016. « Gray Wolf Exposure to Emerging Vector-Borne Diseases in Wisconsin with Comparison to Domestic Dogs and Humans ». *PLoS ONE* 11(11): e0165836.

Jedrzejewski, Wlodzimierz et al. 2018. « Estimating large carnivore populations at global scale based on spatial predictions of density and distribution – Application to the jaguar (Panthera onca) ». *PLoS ONE* 13.

Kilp, Susanne et al. 2014a. « Pharmacokinetics of Fluralaner in Dogs Following a Single Oral or Intravenous Administration ». *Parasites & Vectors* 7: 85.

———. 2014b. « Pharmacokinetics of Fluralaner in Dogs Following a Single Oral or Intravenous Administration ». *Parasites & Vectors* 7: 85.

Kilp, Susanne, Diana Ramirez, Mark J Allan, et Rainer KA Roepke. 2016. « Comparative pharmacokinetics of fluralaner in dogs and cats following single topical or intravenous administration ». *Parasites & Vectors* 9: 296.

Klafke, Guilherme M. et al. 2019. « High-resolution melt (HRM) analysis for detection of SNPs associated with pyrethroid resistance in the southern cattle fever tick, Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) ». *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 9: 100-111.

Kleiber, M. 1932. « Body Size and Metabolism ». *Hilgardia* 6(11): 315-53.

Kong, John et al. 2017. « Absolute Configuration Assignment of (+)-Fluralaner Using Vibrational Circular Dichroism ». *Chirality* 29(12): 854-64.

Kristofer Helgen (Division of Mammals, National Museum of Natural History, et Louise Emmons. 2015. « IUCN Red List of Threatened Species: Nasua nasua ». *IUCN Red List of Threatened Species*. https://www.iucnredlist.org/en (19 septembre 2021).

Kuhn, Rachel Anne, Hélène Jacques, et Lionel Guillaume. 2011. *La loutre d'Europe: Lutra lutra (Linnaeus, 1758)*. Nort-sur-Erdre, France: Société française pour l'étude et la protection des mammifères.

« La loutre d'Europe ». *Parc Zoologique de Paris*. https://www.parczoologiquedeparis.fr/fr/les-animaux/la-loutre-d-europe-2458 (18 septembre 2021).

Labruna, Marcelo B. et al. 2005. « Ticks (Acari: Ixodida) on Wild Carnivores in Brazil ». *Experimental & Applied Acarology* 36(1-2): 149-63.

Labruna, Marcelo B., Cátia D. de Paula, Thiago F. Lima, et Dênis A. Sana. 2002. « Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild Animals from the Porto-Primavera Hydroelectric Power Station Area, Brazil ». *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97: 1133-36.

« Le fossa ». *Parc Zoologique de Paris*. https://www.parczoologiquedeparis.fr/fr/les-animaux/le-fossa-2486 (18 septembre 2021).

« Le lion d'Afrique ». *Parc Zoologique de Paris*. https://www.parczoologiquedeparis.fr/fr/les-animaux/le-lion-d-afrique-2450 (18 septembre 2021).

« Le loup ibérique ». *Parc Zoologique de Paris*. https://www.parczoologiquedeparis.fr/fr/les-animaux/le-loup-iberique-2457 (18 septembre 2021).

« Le puma ». *Parc Zoologique de Paris*. https://www.parczoologiquedeparis.fr/fr/les-animaux/le-puma-2425 (18 septembre 2021).

Leclaire, Sarah, Sandie Menard, et Antoine Berry. 2015. « Molecular Characterization of Babesia and Cytauxzoon Species in Wild South-African Meerkats ». *Parasitology* 142(4): 543-48.

Lehotay, Steven J. et al. 2010. « Comparison of QuEChERS Sample Preparation Methods for the Analysis of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables ». *Journal of Chromatography. A* 1217(16): 2548-60.

« Les jaguars ». *Parc Zoologique de Paris*. https://www.parczoologiquedeparis.fr/fr/parrainez-animal/animaux-parrainer/aramis-jaguar (18 septembre 2021).

Lima, Edson de Souza, Rodrigo Silva Pinto Jorge, et Julio Cesar Dalponte. 2009. « Habitat Use and Diet of Bush Dogs, Speothos Venaticus, in the Northern Pantanal, Mato Grosso, Brazil ». 73(1): 13-19.

« Liquid Chromatography ». 2013. *Chemistry LibreTexts*. https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Instrumental_Analysis/Chromatography/Liquid_Chromatography (9 septembre 2021).

« Lutra lutra (Linnaeus, 1758) - Loutre d'Europe, Loutre commune, Loutre ». *Inventaire National du Patrimoine Naturel*. https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/60630 (18 septembre 2021).

Mahmood, Iftekhar. 2007. « Application of Allometric Principles for the Prediction of Pharmacokinetics in Human and Veterinary Drug Development ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 59(11): 1177-92.

Moutou, François. 2015. « Rôle des animaux vertébrés dans l'épidémiologie des zoonoses ». *Revue Francophone Des Laboratoires* 2015(472): 25-33.

Network), Clay Nielsen (The Cougar, Marcella Kelly (Virginia Polytechnic and State University), Biologia) Carlos Lopez-Gonzalez (Universidad Autonoma de Queretaro, et Dan Thompson (Wyoming Game and Fish Department). 2014. « IUCN Red List of Threatened Species: Puma concolor ». *IUCN Red List of Threatened Species*. https://www.iucnredlist.org/en (20 septembre 2021).

Nowak, Ronald M. 1999. *Walker's mammals of the world*. 6th ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press.

Olson, Link. 1997. « Kurta, A. 1995. Mammals of the Great Lakes Region. University of Michigan Press, Ann Arbor, xii + 376 pp. ISBN 0-472-09471-1, price (hardcover), $42.50, ISBN 0-472-06497-5, price (paper), $16.95 ». *Journal of Mammalogy* 78(2): 696-98.

Ozoe, Yoshihisa et al. 2010. « The Antiparasitic Isoxazoline A1443 Is a Potent Blocker of Insect Ligand-Gated Chloride Channels ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 391(1): 744-49.

« Panthera leo (Linnaeus, 1758) - Lion ». *Inventaire National du Patrimoine Naturel*. https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/644245 (18 septembre 2021).

« Panthera onca (Linnaeus, 1758) - Jaguar-Statuts ». https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/443623/tab/statut (18 septembre 2021).

Peixoto, P. V. et al. 2007. « Fatal Cytauxzoonosis in Captive-Reared Lions in Brazil ». *Veterinary Parasitology* 145(3): 383-87.

Perestrelo, Rosa et al. 2019. « QuEChERS - Fundamentals, Relevant Improvements, Applications and Future Trends ». *Analytica Chimica Acta* 1070: 1-28.

Pittermannová, Pavlína et al. 2021. « Wild Small Mammals and Ticks in Zoos—Reservoir of Agents with Zoonotic Potential? » *Pathogens* 10(6): 777.

PubChem. « Fluralaner ». https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/25144319 (7 août 2021).

Rakotonanahary, Rado J. L. et al. 2017. « Molecular and Serological Evidence of Flea-Associated Typhus Group and Spotted Fever Group Rickettsial Infections in Madagascar ». *Parasites & Vectors* 10(1): 125.

Ratovonjato, Jocelyn, Minoarisoa Rajerison, Soanandrasana Rahelinirina, et Sébastien Boyer. 2014. « Yersinia pestis in Pulex irritans Fleas during Plague Outbreak, Madagascar ». *Emerging Infectious Diseases* 20(8): 1414-15.

« Règlement (UE) 2019/ du Parlement européen et du Conseil du 11 décembre 2018 relatif aux médicaments vétérinaires et abrogeant la directive 2001/82/CE ». : 125.

Roberts, Larry S, et John Janovy. 2000. *Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' Foundations of Parasitology*. Boston: McGraw Hill.

Rochlin, Ilia, et Alvaro Toledo. 2020. « Emerging tick-borne pathogens of public health importance: a mini-review ». *Journal of Medical Microbiology* 69(6): 781-91.

Roos, A. et al. 2014. « IUCN Red List of Threatened Species: Lutra lutra ». *IUCN Red List of Threatened Species*. https://www.iucnredlist.org/en (20 septembre 2021).

Sabnis, S. 1999. « Factors Influencing the Bioavailability of Peroral Formulations of Drugs for Dogs ». *Veterinary Research Communications* 23(7): 425-47.

Schmidt-Nielsen, Knut, et Schmidt-Nielsen Knut. 1984. *Scaling: Why Is Animal Size So Important?* Cambridge University Press.

Sharma, Vijay, et John H. McNeill. 2009. « To Scale or Not to Scale: The Principles of Dose Extrapolation ». *British Journal of Pharmacology* 157(6): 907-21.

Sherrard-Smith, Ellie, Elizabeth Chadwick, et Joanne Cable. 2012. « Abiotic and Biotic Factors Associated with Tick Population Dynamics on a Mammalian Host: Ixodes Hexagonus Infesting Otters, Lutra Lutra ». *PLOS ONE* 7(10): e47131.

Sollmann, Rahel et al. 2013. « Note on the diet of the jaguar in central Brazil ». *European Journal of Wildlife Research* 59: 445-48.

Sonenshine, Daniel E., et R. Michael Roe. 2013. *Biology of Ticks Volume 2*. OUP USA.

Sousa, C. A. 1997. « Fleas, Flea Allergy, and Flea Control: A Review ». *Dermatology Online Journal* 3(2): 7.

« Speothos venaticus (Lund, 1842) ». *Inventaire National du Patrimoine Naturel*. https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/443618 (19 septembre 2021).

van Staaden, Moira. 1994. « Suricata suricata ». *Mammalian Species* 483: 1.

Sunquist, Mel, et Fiona Sunquist. 2002. *Wild Cats of the World*. University of Chicago Press.

Suppan, Johannes, Benedikt Engel, Martina Marchetti-Deschmann, et Sylvia Nürnberger. 2018. « Tick attachment cement – reviewing the mysteries of a biological skin plug system ». *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 93(2): 1056-76.

Torina, Alessandra et al. 2007. « Serologic and Molecular Characterization of Tickborne Pathogens in Lions (Panthera Leo) from the Fasano Safari Park, Italy ». *Journal of Zoo and Wildlife Medicine: Official Publication of the American Association of Zoo Veterinarians* 38(4): 591-93.

Tôrres, Natália Mundim, Paulo de Marco Júnior, José Alexandre Felizola Diniz Filho, et Leandro Silveira. 2008. « Jaguar Distribution in Brazil: Past, Present and Future ». http://repositorio.bc.ufg.br/handle/ri/11741 (18 septembre 2021).

Torres, Rita Tinoco, Nicole Silva, Gonçalo Brotas, et Carlos Fonseca. 2015. « To Eat or Not To Eat? The Diet of the Endangered Iberian Wolf (Canis lupus signatus) in a Human-Dominated Landscape in Central Portugal ». *PLoS ONE* 10(6): e0129379.

Toyota, Masanori et al. 2019. « Efficacy of orally administered fluralaner in dogs against laboratory challenge with Haemaphysalis longicornis ticks ». *Parasites & Vectors* 12(1): 43.

Vechtova, Pavlina et al. 2020. « Catalogue of stage-specific transcripts in Ixodes ricinus and their potential functions during the tick life-cycle ». *Parasites & Vectors* 13(1): 311.

Vogeser, M., et K. G. Parhofer. 2007. « Liquid Chromatography Tandem-Mass Spectrometry (LC-MS/MS) - Technique and Applications in Endocrinology ». *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* 115(9): 559-70.

Walker, Alan R. 2009. « Review of “Ticks: Biology, Disease and Control” by Alan Bowman & Patricia Nuttall (eds.) ». *Parasites & Vectors* 2: 1.

Walther, Feli, Mark Allan, Rainer Roepke, et Martin Nuernberger. 2014. « The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs ». *Parasites & vectors* 7: 84.

Walther, Feli M., Allan J. Paul, et al. 2014. « Safety of Fluralaner, a Novel Systemic Antiparasitic Drug, in MDR1(-/-) Collies after Oral Administration ». *Parasites & Vectors* 7: 86.

Walther, Feli M, Mark J Allan, Rainer KA Roepke, et Martin C Nuernberger. 2014. « Safety of fluralaner chewable tablets (BravectoTM), a novel systemic antiparasitic drug, in dogs after oral administration ». *Parasites & Vectors* 7: 87.

Weber, Tina, et Paul M. Selzer. 2016. « Isoxazolines: A Novel Chemotype Highly Effective on Ectoparasites ». *ChemMedChem* 11(3): 270-76.

Weigl, Richard, et Marvin L. Jones. 2005. *Longevity of mammals in captivity: from the living collections of the world*. Stuttgart, Allemagne: Schweizerbart.

West, Louis Jolyon, Chester M. Pierce, et Warren D. Thomas. 1962. « Lysergic Acid

Diethylamide: Its Effects on a Male Asiatic Elephant ». *Science* 138(3545): 1100-1103.

Whitaker, John, et D. Abrell. 1987. « Notes on some ectoparasites from mammals of Paraguay ». *Entomological News* 98: 198-204.

Wick, Peach Van, Mark G. Papich, Brie Hashem, et Ernesto Dominguez-Villegas. 2020. « PHARMACOKINETICS OF A SINGLE DOSE OF FLURALANER ADMINISTERED ORALLY TO AMERICAN BLACK BEARS (URSUS AMERICANUS) ». *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 51(3): 691-95.

Wilkinson, Vicky et al. 2021. « Fluralaner as a novel treatment for sarcoptic mange in the bare-nosed wombat (Vombatus ursinus): safety, pharmacokinetics, efficacy and practicable use ». *Parasites & Vectors* 14: 18.

Wylie, Todd, Divyajot S. Sandhu, et Najib Murr. 2021. « Status Epilepticus ». In *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430686/ (5 octobre 2021).

Zhang, Yong, Meirong Huo, Jianping Zhou, et Shaofei Xie. 2010. « PKSolver: An Add-in Program for Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis in Microsoft Excel ». *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 99(3): 306-14.

Zuercher, Gerald, Philip Gipson, et Osvaldo Carrillo. 2005. « Diet and habitat associations of bush dogs Speothos venaticus in the Interior Atlantic Forest of eastern Paraguay ». *Oryx* 39: 86-89.

Annexes

Annexe 1 – Validation du protocole d'extraction du fluralaner

VetAgro Sup — Unité de Recherche Interaction Cellule Environnement

Dosage des résidus de Fluralaner dans les fèces par LC-MS-MS

Unité ICE-VETAGRO SUP

Octobre- 2020

	Pages
Conditions de dosage par LC-MS-MS	3
- Conditions chromatographiques	3
- Conditions MSD	3
- Spectres LC-MS	4
- Chromatogrammes	5
Préparation des solutions	5
- Solutions mères et standards de calibration	5
- Traitements des échantillons	6
Validation de la méthode de dosage	6
- Spécificité	6
-Limite de détection (LOD), de quantification basse (LLOQ) et quantification haute (ULOQ)	7
- Contamination inter-échantillons (carry over)	8
- Linéarité	8
- Coefficients d'extraction et effet matrice	10
- Répétabilité et fidélité intermédiaire	11
- Intégrité de la concentration après dilution des échantillons	12
- Stabilité des échantillons sur 24h	13

Conditions de dosage par
LC-MS-MS (Agilent technologies)

- Conditions chromatographiques

Colonne : Lichrospher 100 C-18 encapped (5 µm) 125 x 4 mm
Réf VWR: 1.50734.0001

Phase mobile:

Phase mobile A: Ammonium Hydrogen carbonate 10 mM ((NH4)HCO3 PM: 79 g/mol) 99 %,
Réf Thermo fisher (Alfa Aesar): 14249
Pesée de 0.79 g diluer dans 1 l d'eau milliQ
Ajusté à pH : 9 avec de l'ammoniaque 25% Normapur réf VWR : 1133-1000

Phase mobile B : Acétonitrile gradient grade LiChrosolv® Reag. Ph Eur Réf VWR: 1.00030.2500

Temps	Phase A	Phase B
0-0.2 min	30 %	70 %
5 min	10 %	90 %
5.5 min	30 %	70 %

Flexi pump G7104C : débit : 0.5 ml / min

Four G7116A : Température de colonne : 45 °C

Injecteur automatique G7167A : injection 20 µl
Thermostat : 6°C
Solvant de rinçage 20 s : eau / acétonitrile/acétone (30/69/1)

- Conditions MSD

Détecteur MSD QQQ :

Paramètres	**Value (+)**
Gas Temp (°C)	240
Gas Flow (l/min)	10
Nebulizer (psi)	35
SheathGasHeater	400
SheathGasFlow	11
Capillary (V)	3000
VCharging	1500

Logiciel d'acquisition : Masshunter (Agilent technologies Inc, USA)

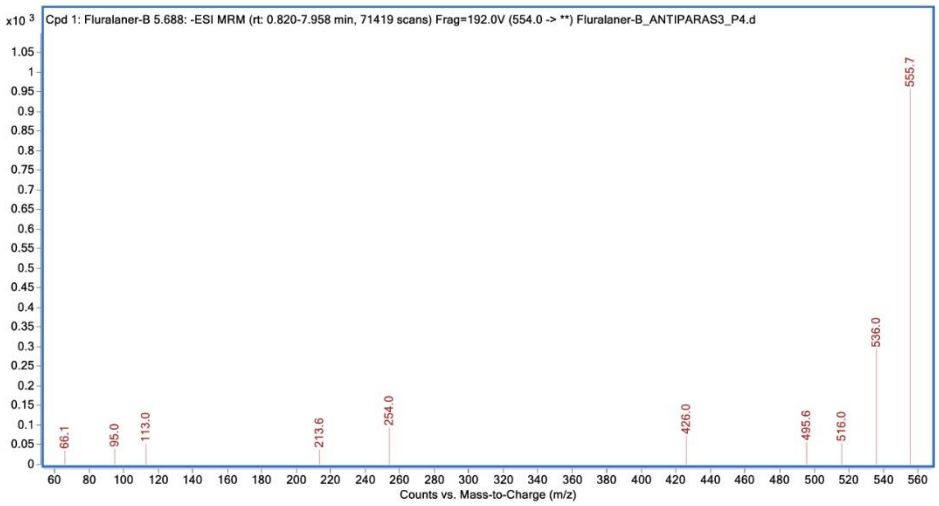
Logiciel de traitement des données : Quantanalysis (Agilent technologies Inc., USA)

Le lotilaner est choisi et testé comme étalon interne.

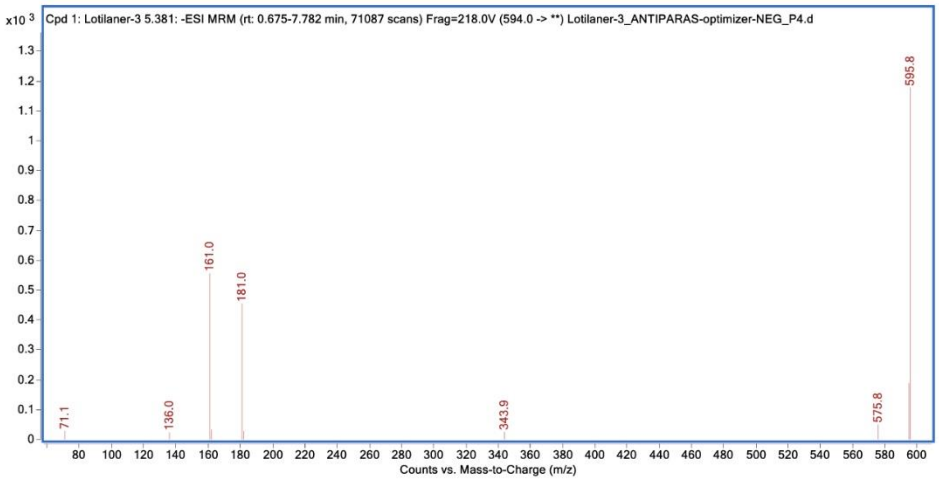
Cpd Name	Retention time	ISTD?	Prec Ion	Prod Ion	Dwell	Frag (V)	CE (V)	Cell Acc (V)	Polarity
Fluralaner	5.36	NO	554.0	536 496 426	50	192	16 24 24	5	négative
Lotilaner (IS)	6.33	YES	594.0	181 575.8 161	50	218	21 17 29	5	négative

- Spectres LC-MS :

Fluralaner

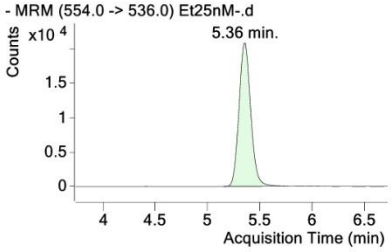


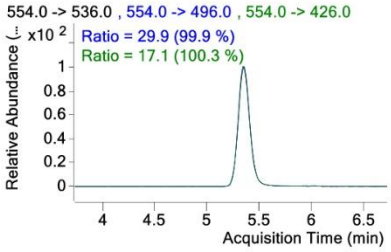
Lotilaner



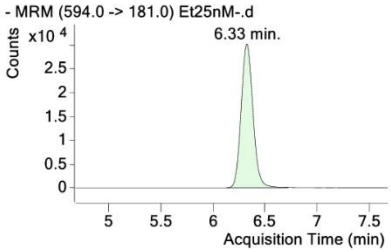
- Chromatogrammes :

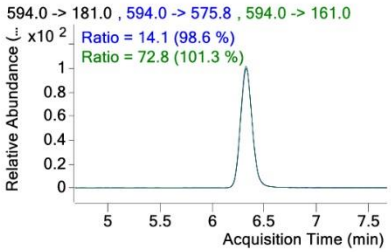
Fluralaner





Lotilaner





Préparation des solutions

Références et fournisseurs

Composés	Fournisseur	Référence	Conservation
Fluralaner	MedChemExpress (MCE)	HY-16973	-20°C 2 mois
Lotilaner (ISTD)	MedChemExpress (MCE)	HY-116564	-20°C 2 mois

- Solutions mères et standards de calibration

<u>Préparation de solutions mères individuelles à 1 mg/ml</u> :
Pesée : 2 mg
Dissoudre dans 2 ml d'Acétonitrile gradient grade
Solutions conservées dans des vials en verres teintés à - 20°C

Refaire ces solutions tous les mois. Stabilité de ces solutions non testée

<u>Solutions intermédiaires à 10 µg/ml</u>

Prélever 10 µL de solution mère dans un vial de 1.5 ml
Phase mobile (30/70) q.s.p. 1 ml

Gammes de supplémentation :

Confectionner chaque jour à partir de ces solutions une gamme de supplémentation pour réaliser ensuite les essais de 0 à 200 ppb dans la matrice :

C en µg/ml	2	1	0.5	0.2	0.1	0.04	0.02
Solution à 10 µg/ml	300						
Solution à 2µg/ml		500	250	100	50	20	10
Phase mobile (30/70)	1200	500	750	900	950	980	990

Gamme Etalons

200	100	50	25	10	5	2	1
100 µl à 2 ppm	50 µl à 2 ppm	50 µl à 1 ppm	50 µl à 0.5 ppm	50 µl à 0.2ppm	50 µl à 0.1 ppm	50 µl à 0.04ppm	50 µl à 0.02 ppm
50 µl de Solution EI à 0.5 ppm soit 25 ppb final							
q.s.p 1000 µL de PM							

Gamme essais fèces

200 ppb	100ppb	50 ppb	25 ppb	10 ppb	5 ppb	2 ppb	1 ppb
200 mg de fèces blanc							
160 µl à 2 ppm	80 µl à 2 ppm	80 µl à 1 ppm	80 µl à 0.5 ppm	80 µl à 0.2ppm	80 µl à 0.1 ppm	80 µl à 0.04ppm	80 µl à 0.02 ppm
80 µl de Solution EI à 0.5 ppm soit 25 ppb final							
200 mg de Quechers A (4gMgSO4/1g NaCl)							
360 µl d'eau	440 µl d'eau milliQ						
1000 µl de CH3CN Agiter au tissuruptor 1 min et centrifuger 5 min à 12500trs/min – Injecter le surnageant							

- Traitement des échantillons :

Dans un tube de 5 ml :
Peser 200 mg de fèces
+ 80 µl d'étalon interne à 0.5 µg/ml (25 ppb final)
+ 200 mg de Quechers (INTERCHIM extraction kit 4g MGSO4 /1g NACL P/N : JO3920)
+ 520 µl d'eau milliQ
+ 1000 µl d'acétonitrile
Agiter 60 secondes au tissuruptor (Qiagen Cat No./ID: 9002756) puis centrifuger 5 min à 3200 trs/min
Récupérer le surnageant et placer dans un vial

Validation de la méthode de dosage

-Spécificité

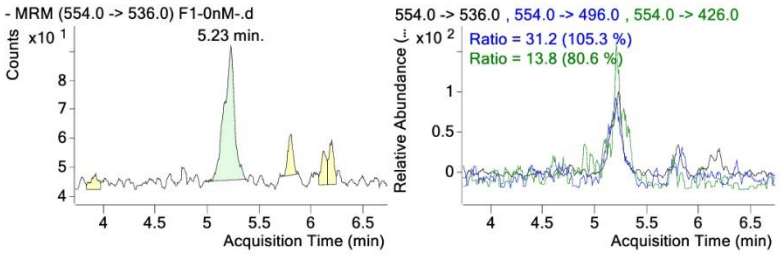
Injecter le solvant de reprise soit dans ce cas la phase mobile (30/70 - tampon ammonium/ CH3CN)
Analyser au minimum 6 essais blancs fèces provenant de différents animaux.
Analyser au minimum 3 essais blancs contenant uniquement l'étalon interne (Lotilaner 25 ppb)
Réaliser 2 essais supplémentés à 25 ppb
Réaliser un étalon à 25 ppb.

Vérifier l'absence d'interférence au même temps de rétention que les différents composés à analyser et l'étalon interne.

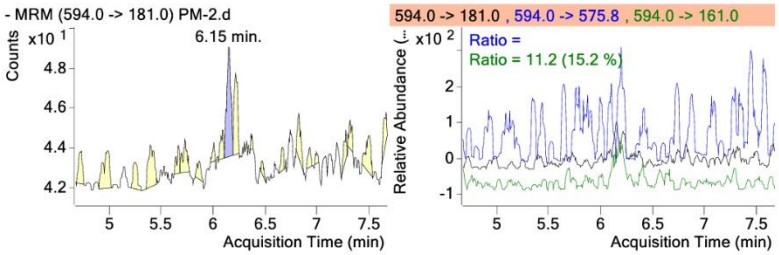
Résultats :

Persistance d'un léger bruit de fond sur les essais blancs fèces uniquement au niveau du Fluralaner mais non significatif.

Fluralaner : Blanc fèces



Lotilaner : blanc phase mobile



La méthode est spécifique sur chacun des composés dans la matrice testée.
Pas de différences visibles entre les différents essais analysés.

-Limite de détection (LOD), de quantification basse (LLOQ) et quantification haute (ULOQ)

Les différentes limites ont été déterminées par l'injection de matrices supplémentées à des concentrations allant de 0.1 à 5 ppb pour déterminer les LOD et LLOQ et de 100 à 1000ppb pour l'ULOQ.

LOD : plus petite concentration permettant la détection des 3 ions produits de chaque composé avec une hauteur au moins 3 fois supérieure au bruit de fond.

Les LLOQ ont été déterminées autour des concentrations basses testées correspondant à 7 à 10 fois le bruit de fond. Les valeurs retenues sont celles qui présentent des coefficients de variations inférieures à 20 %

Les ULOQ sont déterminées comme les valeurs hautes de gamme permettant l'obtention d'une droite de régression linéaire et un carry over inférieur à 0.5 %.

Résultats en concentrations finales :

	En teneur injectée ng/ml	Teneur fèces ng/g
LOD	0.2 ppb	1.6 ppb
LLOQ	1 ppb	8 ppb

ULOQ	200 ppb	1600 ppb

La gamme lors des dosages sera limitée à 200 ppb pour diminuer les risques de contamination sur l'appareillage et au-delà de cette limite la gamme étalon n'est plus linéaire.
Tout échantillon en dehors de ces valeurs devra être dilué dans un essai matrice blanc contenant l'étalon interne pour correspondre à la gamme d'étalonnage.

- Contamination des échantillons (Carry over)

Vérifier le carry over après l'injection de la solution essai la plus concentrée (1000 ppb final soit 8000 ppb dans les fèces) en injectant ensuite de la phase mobile.
Résultats observés sur n=3 répétitions

	Fluralaner	Lotilaner (ISTD)
Fèces 1000nM	4476537	241156
Phase Mobile	53	3
Carry over en %	0.00118%	0.00128%

Carry over négligeable correspondant au bruit de fond.
Chaque série d'analyses sera encadrée d'un rinçage au méthanol tout de même par précaution.

- Linéarité

La linéarité est étudiée sur trois jours de la LLOQ de chaque composé à 200 ppb. Préparer chaque jour une gamme de supplémentation différente.

Injecter chaque solution 1 fois. Effectuer une injection de l'un des étalons (25 ppb) toutes les 4 à 6 injections d'essais. Les concentrations de chaque essai sont corrigées par rapport aux surfaces de l'étalon interne

Calculer les pentes et les ordonnées à l'origine des droites de régression D : Y =b X + a

* Linéarités étalons :

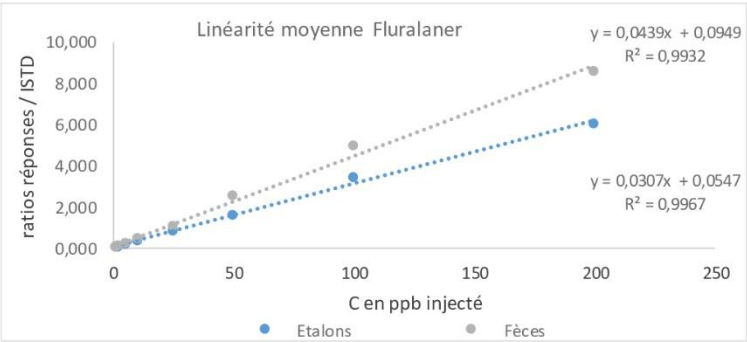
	Etalons J1			Etalons J2			Etalons J3		
C en ppb	Fluralaner	Lotilaner (ISTD)	ratios	Fluralaner	Lotilaner (ISTD)	ratios	Fluralaner	Lotilaner (ISTD)	ratios
1	8094	260167	0.031	3743	118076	0.032	3974	114414	0.035
2	15939	266694	0.060	7694	116478	0.066	7844	109882	0.071
5	39754	262465	0.151	19395	118658	0.163	19396	108653	0.179
10	73894	252828	0.292	37866	111192	0.341	39866	109192	0.365
25	211933	275825	0.768	98660	117576	0.839	97760	107579	0.909
50	356259	249124	1.430	180708	109799	1.646	189749	106711	1.778
100	669011	235669	2.839	393800	106835	3.686	393800	106835	3.686
200	1252439	242675	5.161	701308	115101	6.093	719339	104104	6.910
	Moyenne	255681		Moyenne	114214		Moyenne	108421	
	C.V.%	5.2%		C.V.%	3.8%		C.V.%	2.8%	
ordonnée			**0.0260**			**0.0313**			**0.0348**
pente			**0.0633**			**0.0703**			**0.0305**
R^2			**0.9975**			**0.9908**			**0.9990**

* Linéarités supplémentés fèces :

	Fèces J1			Fèces J2			Fèces J3		
C en ppb	Fluralaner	Lotilaner (ISTD)	ratios	Fluralaner	Lotilaner (ISTD)	ratios	Fluralaner	Lotilaner (ISTD)	ratios
1	8151	169495	0.048	8086	165963	0.049	8137	163161	0.050
2	14994	177391	0.085	14418	162566	0.089	15410	163829	0.094
5	50607	217899	0.232	38453	171233	0.225	38653	170161	0.227
10	93506	196839	0.475	78123	168478	0.464	77077	166082	0.464
25	215190	216097	0.996	186746	170236	1.097	191749	171118	1.121
50	532310	196300	2.712	415154	170324	2.437	425125	175328	2.425
100	925663	176383	5.248	845581	173244	4.881	985714	203243	4.850
200	1055189	153102	6.892	1556947	165745	9.394	1469199	155766	9.432
	Moyenne	187938		Moyenne	168474		Moyenne	171086	
	C.V.%	12.1%		C.V.%	2.1%		C.V.%	8.3%	
pente			**0.0368**			**0.0473**			**0.0474**
ordonnée			**0.2771**			**0.0044**			**0.0033**
R^2			**0.9419**			**0.9995**			**0.9997**

* Linéarités moyennes et variabilité des essais :

	Etalons		Fèces	
C en ppb	ratios moyens	C.V.%	ratios moyens	C.V.%
1	0.033	6.0%	0.049	1.8%
2	0.066	8.9%	0.089	5.4%
5	0.164	8.2%	0.228	1.7%
10	0.333	11.1%	0.468	1.4%
25	0.839	8.4%	1.071	6.2%
50	1.618	10.9%	2.525	6.4%
100	3.404	14.4%	4.993	4.4%
200	6.055	14.5%	8.573	17.0%
pente	**0.0307**		**0.0439**	
ordonnée	**0.0547**		**0.0949**	
R^2	**0.997**		**0.993**	



- coefficients d'extraction et effet matrice :

Les rendements d'extraction bruts et par rapport à l'étalon interne sont calculés pour chaque jour d'étude par rapport aux gammes étalons obtenues.

Le biais détermine l'effet matrice obtenu sur la zone de linéarité étudiée.

Dans les fèces

J1 C en ppb	RDT Brut Fluralaner	RDT Brut Lotilaner (ISTD)	RDT/ISTD ratios	Biais en %
1	100.7%	66.3%	154.6%	54.6%
2	94.1%	69.4%	141.4%	41.4%
5	127.3%	85.2%	153.3%	53.3%
10	126.5%	77.0%	162.5%	62.5%
25	101.5%	84.5%	129.6%	29.6%
50	149.4%	76.8%	189.6%	89.6%
100	138.4%	69.0%	184.9%	84.9%
200	84.3%	59.9%	133.5%	33.5%
Moyenne	115.3%	73.5%	156.2%	**56.2%**
C.V.%	20.2%	12.1%	14.2%	

J2 C en ppb	RDT Brut Fluralaner	RDT Brut Lotilaner (ISTD)	RDT/ISTD ratios	Biais en %
1	216.1%	145.3%	153.7%	53.7%
2	187.4%	142.3%	134.3%	34.3%
5	198.3%	149.9%	137.4%	37.4%
10	206.3%	147.5%	136.2%	36.2%
25	189.3%	149.0%	130.7%	30.7%
50	229.7%	149.1%	148.1%	48.1%
100	214.7%	151.7%	132.4%	32.4%
200	222.0%	145.1%	154.2%	54.2%
Moyenne	208.0%	147.5%	140.9%	**40.9%**
C.V.%	7.4%	2.1%	6.8%	

J3 C en ppb	RDT Brut Fluralaner	RDT Brut Lotilaner (ISTD)	RDT/ISTD ratios	Biais en %
1	204.7%	150.5%	143.6%	43.6%
2	196.4%	151.1%	131.8%	31.8%
5	199.3%	156.9%	127.3%	27.3%
10	193.3%	153.2%	127.1%	27.1%
25	196.1%	157.8%	123.3%	23.3%
50	224.0%	161.7%	136.4%	36.4%
100	250.3%	187.5%	131.6%	31.6%
200	204.2%	143.7%	136.5%	36.5%
Moyenne	208.6%	157.8%	132.2%	**32.2%**
C.V.%	9.3%	8.3%	4.9%	

Bilan : valeurs moyennes obtenues dans les fèces :

C en ppb	RDT Brut Fluralaner	RDT Brut Lotilaner (ISTD)	RDT/ISTD ratios	Biais en %
1	173.8%	120.7%	150.6%	50.6%
2	159.3%	120.9%	135.8%	35.8%
5	175.0%	130.7%	139.3%	39.3%
10	175.4%	125.9%	141.9%	41.9%
25	162.3%	130.5%	127.9%	27.9%
50	201.1%	129.2%	158.0%	58.0%
100	201.1%	136.0%	149.6%	49.6%
200	170.2%	116.2%	141.4%	41.4%
Moyenne	177.3%	126.3%	143.1%	**43.1%**
C.V.%	8.9%	5.2%	6.6%	

Intervalle de confiance contenant le rendement d'extraction moyen dans les fèces

124.2% < rendement moyen < 162.0%

Effet matrice moyen de + 43%

Conclusion :

Les rendements bruts moyens sont supérieurs à 100 % pour les 2 composés. La quantification par rapport à l'étalon interne sort également de l'intervalle 80 - 120%. L'effet matrice est important dans les fèces. La quantification ne peut s'effectuer par rapport à une gamme d'étalonnage dans la phase mobile. Une gamme d'étalonnage dans la matrice devra être réalisée pour la quantification.

- Répétabilité et fidélité intermédiaire

Les coefficients de variation sont calculés sur chaque point des différentes gammes étalons et matrices supplémentées (n=3) sur 3 jours différents.

Résultats des étalons 25 ppb intermédiaires chromatographiés chaque jour : n= 12

		Fluralaner	Lotilaner (ISTD)	ratios
J1	Moyenne	186676	237332	0.790
	C.V.%	10.2%	11.6%	8.6%
J2	Moyenne	116225	117288	0.987
	C.V.%	16.3%	6.3%	10.7%
J3	Moyenne	110174	121041	0.911
	C.V.%	10.8%	15.7%	5.3%

Fidélité intermédiaire

Moyenne Générale	**137691.4**	**158553.3**	**0.896**
C.V.%	**28.4%**	**37.9%**	**12.6%**

Fèces

C en ppb	ratios J1	ratios J2	ratios J3	FR J1	FR J2	FR J3
1	0.048	0.049	0.050	0.0481	0.0487	0.0499
2	0.085	0.089	0.094	0.0423	0.0443	0.0470
5	0.232	0.225	0.227	0.0465	0.0449	0.0454
10	0.475	0.464	0.464	0.0475	0.0464	0.0464
25	0.996	1.097	1.121	0.0398	0.0439	0.0448
50	2.712	2.437	2.425	0.0542	0.0487	0.0485
100	5.248	4.881	4.850	0.0525	0.0488	0.0485
200	6.892	9.394	9.432	0.0345	0.0470	0.0472
			Moyenne	0.04566	0.04659	0.04721
			C.V.%	14.4%	4.4%	3.6%
	Fidélité intermédiaire		Moyenne Générale		0.0465	
			C.V.%		8.5%	

Les coefficients de variations sont inférieurs à 20 % pour les rapports de surfaces par rapport à l'étalon interne.

- Intégrité de la concentration après dilution des échantillons :

Des essais supplémentés fèces à 1000 ppb ont été chromatographiés non dilués puis dilués au 1/10 dans de la phase mobile ou du blanc matrice

	Fluralaner	Lotilaner (ISTD)	ratio	biais
Fèces 100 nM	794589	228564	**3.476**	Référence
Fèces 1000 nM	4476537	241156	18.563	-46.6%
dilution 1/10 blanc Matrice	797823	259130	3.079	-11.4%
dilution 1/10 blanc Phase mobile	787361	26648	29.547	-15.0%

L'essais à 1000 ppb sature le signal et n'est plus dans la gamme de linéarité. C'est l'essai à 100 ppb qui sert de référence pour le calcul des teneurs dans les différents essais. Les biais liés à la dilution ne sont pas très importants. Les échantillons avec des teneurs en dehors de la gamme de dosage (> 200ppb final injecté soit 1600 ppb dans les fèces) pourront être dilués dans la phase mobile ou un essai blanc matrice sans modification majeur de la teneur de l'échantillon.

- Stabilité des échantillons sur 24H

Des séries d'essais matrices sont analysées à To puis à To+24h. Elles sont conservées à +6°C (température interne du passeur d'échantillons) et à l'obscurité afin de vérifier la stabilité des composés pendant un processus normal d'analyse.

Calcul des facteurs de réponse (FR) pour chaque point de concentration :

Stabilité de la gamme essais supplémentés fèces :

Fèces	ratio à T0	facteur réponse T0	ratio à T24H	facteur réponse T24H	biais en %
1	0.035	0.0351	0.037	0.0368	4.8%
2	0.072	0.0361	0.074	0.0369	2.3%
5	0.176	0.0353	0.175	0.0349	-1.0%
10	0.373	0.0373	0.348	0.0348	-6.7%
25	0.674	0.0270	0.649	0.0260	-3.7%
50	1.859	0.0372	1.668	0.0334	-10.3%
100	3.476	0.0348	3.153	0.0315	-9.3%
200	6.712	0.0336	6.117	0.0306	-8.9%
moyenne		0.0345		0.0331	-4.1%

Les variations entre les teneurs à To et T24h sont négatives mais inférieures à 20%.

Les solutions essais peuvent être considérées comme stables 24 h entre 2 et 8°C.

Etude pharmacocinétique du fluralaner (BRAVECTO™) en parc zoologique

par Dalil BELHADJ

Sujets de l'étude

Ordre	
Carnivora N = 23	
Sous-ordre	
Groupe 1 *Feliformia* $N_1 = 14$	Groupe 2 *Caniformia* $N_2 = 9$
Espèces	
Panthera leo leo (N = 4) $Pl_1 - Pl_2 - Pl_3 - Pl_4$ *Puma concolor* (N = 4) $Pc_1 - Pc_2 - Pc_3 - Pc_4$ *Panthera onca* (N = 2) $Po_1 - Po_2$ *Cryptoprocta feroz* (N = 2) $Cf_1 - Cf_2$ *Suricata suricatta* (N = 2) $Ss_1 - Ss_2$ <u>Témoins négatifs</u> *Panthera leo leo* (N = 1) : Pl_1 *Puma concolor* (N = 1) : Pc_1 *Panthera onca* (N = 1) : Po_1 *Cryptoprocta feroz* (N = 1) : Cf_1 *Suricata suricatta* (N = 1) : Ss_1	*Nasua nasua* (N = 2) $Nn_1 - Nn_2$ *Speothos venaticus* (N = 3) $Sv_1 - Sv_2 - Sv_3$ *Canis lupus signatus* (N = 2) $Cl_1 - Cl_2$ *Lutra lutra* (N = 2) $Ll_1 - Ll_2$ <u>Témoins négatifs</u> *Nasua nasua* (N = 1) : Nn_1 *Speothos venaticus* (N = 1) : Sv_1 *Canis lupus signatus* (N = 1) : Cl_1 *Lutra lutra* (N = 1) : Ll_1

Doses à administrer per os à J0 : [20,2 ; 77,7] mg/kg PV

Espèce étudiée	Masse corporelle moyenne (kg)	Dose totale (mg)	Soit
Panthera leo leo (lion)	175	3536	2,5 comprimés BRAVECTO™ 1400 mg
Puma concolor (puma)	63	1644	1 comprimé BRAVECTO™ 1400 mg
Panthera onca (jaguar)	81,2	1987	2 comprimés BRAVECTO™ 1000 mg
Cryptoprocta feroz (fossa)	9,5	398	1 comprimé BRAVECTO™ 250 mg
Suricata suricatta (suricate)	0,8	62	1/4 comprimé BRAVECTO™ 250 mg
Nasua nasua (coati roux)	4,8	236	1 comprimé BRAVECTO™ 250 mg
Speothos venaticus (chien des buissons)	6,0	282	1 comprimé BRAVECTO™ 250 mg
Canis lupus signatus (loup ibérique)	34,9	1055	1 comprimé BRAVECTO™ 1000 mg
Lutra lutra (loutre d'Europe)	6,8	310	1 comprimé BRAVECTO™ 250 mg

Fréquence des prélèvements sur le terrain

J-7 J1 J7 J14 J21 J28 J35 J42 J49 J56 J70 J84 J98 J112

Prélèvements

- **5 grammes** de matière fécale au sein des fèces *(bien homogénéiser avant prélèvement ou prélever à plusieurs sites)*
- **Identifier chaque prélèvement** *(Nom animal + date +/- remarque)*
- **Conserver à température négative** *(-10 < T°C < -18)* jusqu'à l'envoi final des prélèvements à :

VetAgro Sup - Laboratoire de pharmacologie
Pr. Philippe Berny
1, avenue Bourgelat
69280 MARCY L'ETOILE

PARC ZOOLOGIQUE DE PARIS

VetAgro Sup

Etude pharmacocinétique du fluralaner (BRAVECTO™) en parc zoologique
par Dalil BELHADJ

LIONS – 4 INDIVIDUS DANS L'ÉTUDE :

- « Kibo » Pl_1 *témoin* (_____ kg) non traité. Pas de BRAVECTO™.
- « Savanah » Pl_2 traité (_____ kg) avec 2 comprimés BRAVECTO™ 1400 mg le ___ /04/21
- « Buni » Pl_3 traité (_____ kg) avec 2 comprimés BRAVECTO™ 1400 mg le ___ /04/21
- « Volcan » Pl_4 traité (_____ kg) avec 3 comprimés BRAVECTO™ 1400 mg le ___ /04/21

Prélèvements fécaux *(5 grammes de fèces)* :

BIEN IDENTIFIER LES PRÉLÈVEMENTS

Date du prélèvement	J-7 (avant administration) ..../..../21	J1 ..../..../21	J7 ..../..../21	J14 ..../..../21	J21 ..../..../21	J28 ..../..../21	J35 ..../..../21
Pl_1 « »							
Pl_2 « »							
Pl_3 « »							
Pl_4 « »							
Date du prélèvement	**J42 ..../..../21**	**J49 ..../..../21**	**J56 ..../..../21**	**J70 ..../..../21**	**J84 ..../..../21**	**J98 ..../..../21**	**J112 ..../..../21**
Pl_1 « »							
Pl_2 « »							
Pl_3 « »							
Pl_4 « »							

PARC ZOOLOGIQUE DE PARIS

VetAgro Sup

Annexe 3 - Concentrations détaillées de fluralaner dans les fèces de l'ensemble des individus de l'étude

FELIFORMES

Fossas

ZANAHARY (*témoin*)		**SAMBARA (*traité au BRAVECTO®*)**	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
0[37]	0	0	<LOD
1	141,2	1	370294,6
7	73,9	7	10784,8
14	36,5	14	126,2
21	20,6	21	844,2
28	0	28	12,4
35	0	35	76,0
42	0	42	<LOD
49	0	49	<LOD
56	0	56	<LOD
70	0	70	<LOD
84	0	84	<LOD
98	0	98	<LOD
112	0	112	<LOD

Suricates

CHOBE (*témoin*)		**GAROA (*traité au BRAVECTO®*)**	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
-7[38]	<LOD[39]	-7	<LOD
0	<LOD	0	<LOD
14	<LOD	7	7,6
27	<LOD	14	14,7
30	<LOD	32	<LOD
37	<LOD	37	<LOD
43	<LOD	44	<LOD
51	<LOD	51	<LOD
59	<LOD	58	<LOD
65	<LOD	64	<LOD
83	<LOD	83	<LOD
85	<LOD	90	<LOD

[37] Jour de traitement au fluralaner
[38] Signifie 7 jours avant traitement
[39] LOD représente la limite de détection, fixée à 1,6 ng/g dans l'étude

Jaguars

ARAMIS (*témoin*)		SIMARA (*traité au BRAVECTO®*)	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
-7	<LOD	-7	<LOD
7	<LOD	1	298,3
14	<LOD	7	16089,2
21	<LOD	14	101,4
28	<LOD	21	36,6
38	<LOD	28	55,4
44	<LOD	36	3472,1
49	<LOD	45	<LOD
60	<LOD	49	23,7
69	<LOD	68	<LOD
72	<LOD	69	124,2
85	<LOD	72	35,7
		83	<LOD
		85	<LOD

Pumas

MAELI (*témoin*)		KALI (*traité au BRAVECTO®*)	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
-7	<LOD	-7	<LOD
1	<LOD	1	13984,8
7	<LOD	7	863,4
14	<LOD	14	<LOD
21	<LOD	21	<LOD
28	<LOD	38	163,8
38	<LOD	44	<LOD
43	<LOD	49	<LOD
49	<LOD	60	<LOD
65	n/a[40]	70	<LOD
70	n/a		
77	n/a		

[40] *Not available* (prélèvement ou analyse non réalisés)

Pumas (suite)

EMY (*traité au BRAVECTO®*)		MACEO (*traité au BRAVECTO®*)	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
-7	<LOD	-7	<LOD
1	7505,6	1	173,3
7	683,3	2	17237,3
14	46,6	7	96,0
21	<LOD	14	21,8
28	4,7	21	<LOD
35	4,8	30	142,5
44	22,6	35	<LOD
49	5,1	44	18,0
57	<LOD	51	<LOD
70	<LOD	60	<LOD
77	<LOD	65	<LOD
		70	<LOD
		77	<LOD
		84	<LOD

Lions de l'Atlas

KIBO (*témoin*)		VOLCAN (*traité au BRAVECTO®*)	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
1	n/a[41]	-7	<LOD
7	n/a	1	13755,7
14	<LOD	7	9424,3
21	<LOD	14	84,6
32	<LOD	21	630,1
39	<LOD	28	1372,0
46	<LOD	37	151,9
49	<LOD	44	38,6
69	n/a	50	58,4
72	n/a	57	182,5
83	n/a	65	91,9
85	n/a	71	90,2
		79	92,6
		86	<LOD

[41] *Not available* (prélèvement ou analyse non réalisés)

Lions de l'Atlas (suite)

BUNI (*traité au BRAVECTO®*)		SAVANNAH (*traité au BRAVECTO®*)	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
-7	<LOD	-7	<LOD
1	70050,9	1	50832,2
7	212,3	7	5957,7
14	3648,2	14	343,0
21	141,0	21	1062,5
32	69,3	29	1051,3
37	4421,9	37	66,9
50	228,7	50	608,5
60	112,3	60	177,3
69	131,5	72	321,6
72	53,9	78	30,6
83	80,1	89	79,5
89	74,9		

CANIFORMES
Coatis roux

BIANCA (*témoin*)		ZOONI (*traité au BRAVECTO®*)	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
7	499,6	-7	<LOD
21	<LOD	1	453,1
31	<LOD	7	225,7
44	<LOD	14	195,8
57	<LOD	21	32,8
69	<LOD	31	<LOD
70	<LOD	36	<LOD
85	<LOD	44	69,1
		57	<LOD
		69	<LOD
		74	<LOD
		82	34,9
		87	<LOD

Loups ibériques

DIEGO (*témoin*)		ENRIQUE (*traité au BRAVECTO®*)	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
-7	n/a[42]	-7	<LOD
7	n/a	1	620,2
21	<LOD	14	188,0
38	<LOD	31	6,6
50	<LOD	37	<LOD
62	n/a	45	<LOD
68	n/a	50	<LOD
85	n/a	62	<LOD
		68	<LOD
		82	<LOD

Loutres d'Europe

BECCA (*témoin*)		DIEKO (*traité au BRAVECTO®*)	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
-7	n/a	-7	<LOD
7	n/a	7	2136,6
21	<LOD	21	905,3
29	<LOD	29	743,1
36	<LOD	36	505,9
37	<LOD	37	<LOD
42	<LOD	42	15,6
50	<LOD	50	<LOD
57	n/a	57	<LOD
64	n/a	64	<LOD
70	n/a	70	<LOD
78	n/a	78	<LOD
88	n/a	88	<LOD

[42] *Not available* (prélèvement ou analyse non réalisés)

Chiens des buissons

MALA (*témoin*)		CHISPA (*traité au BRAVECTO®*)		OAKLEY (*traité au BRAVECTO®*)	
Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)	Temps (j)	Concentration (ng/g)
-7	n/a[43]	42	<LOD	-7	<LOD
7	n/a	62	<LOD	14	<LOD
14	<LOD	68	<LOD	21	<LOD
21	<LOD	72	<LOD	28	<LOD
28	<LOD	81	<LOD	41	<LOD
35	<LOD	85	<LOD	50	<LOD
44	<LOD			56	648,1
50	<LOD			67	<LOD
56	n/a			73	<LOD
67	n/a			81	<LOD
73	n/a			85	<LOD
81	n/a				
85	n/a				

[43] *Not available* (prélèvement ou analyse non réalisés)

Annexe 4 – Exemple de fiche de laboratoire utilisée pour l'analyse des échantillons

Fiche de laboratoire – Pesée des échantillons

Espèce : ……Foss A……

Individu n°... : ……Sambaira

Témoin *(sans traitement)* : ~~Oui~~ / Non

Traitement réalisé le : / / 2020

Date du jour : / / 2020

N°	Date de prélèvement	Tare coupelle (g)	Poids frais (g)	Poids sec (g)	Humidité (%)	Poids essai
1 poids	4 J-7 S15	2,1520	3,9465	2,9378		210,6
2 poids	5 J1 S16	2,0758	4,5047	3,1978		252,7
3 poids	6 J7 S17	2,0615	4,1022	2,8813		211,5
33 4	J14 S18	2,1275	3,9327	2,8226		228,8
34 5 poids	J21 S19	2,0274	3,9030	2,7280		202,7
35 6	J28 S20	2,0616	4,4427	2,9255		212,9
36 7 poids	J35 S21	2,0413	3,5963	2,8575		215,4
37 8	3/6 J42 S22	2,0265	4,1287	3,1330		222,8
38 9 poids	10/6 J49 S23	2,0206	4,8131	3,0963		222,5
poids 10 180	16/6 J56 S24	2,2773	3,9479	3,0350		0,2146
11 181	21/6 J70 S25	2,0683	4,7276	3,0174		0,2290
12 191	J84 S26	2,0673	4,2401	3,1414		0,2097
13 192	8/7 J98 S27	2,0453	3,8206	2,6785		0,2315
poids 14 193	13/7 J112 S28	2,0653	3,4266	2,8260		0,2300

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

VetAgro Sup

ANALYSE PHARMACOCINETIQUE DU FLURALANER DANS LE CADRE D'UNE ETUDE PILOTE SUR LE TRAITEMENT ANTIPARASITAIRE DE 9 ESPECES DE CARNIVORES SAUVAGES EN PARC ZOOLOGIQUE

Auteur

BELHADJ Dalil

Résumé

Cette étude, réalisée en collaboration avec le Parc Zoologique de Paris, avait pour objectif de pallier le manque de données sur le fluralaner en dressant son profil pharmacocinétique chez quelques espèces de carnivores sauvages et de le comparer aux données existantes chez le chien et le chat afin d'en dégager les éventuelles applications en parc zoologique.

Les analyses de laboratoire ont montré que la cinétique du fluralaner était globalement plus rapide chez les carnivores sauvages que chez les carnivores domestiques avec une durée d'élimination qui ne dépasse globalement pas un mois. Des différences interspécifiques ont toutefois été relevées, mais sont à mettre en relation avec la présence de certains biais. Les enjeux environnementaux de l'utilisation du fluralaner ont pu finalement être discutés suite à ces résultats.

Mots-clés

Pharmacologie, Parcs zoologiques, Parasitologie vétérinaire, Animaux carnivores

Jury

Président du jury	:	**Pr**	**WALLON Martine**
Directeur de thèse	:	**Dr**	**BERNY Philippe**
2ème assesseur	:	**Dr**	**RENE-MARTELLET Magalie**

UNIVERSITÉ DE LYON