HAL
open science

La Leishmaniose Canine : ce que doit savoir le Pharmacien d'officine

Clémence Louis

To cite this version:

Clémence Louis. La Leishmaniose Canine : ce que doit savoir le Pharmacien d'officine. Sciences pharmaceutiques. 2009. hal-01732840

HAL Id: hal-01732840

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732840

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1

2009

FACULTE DE PHARMACIE

THESE

La Leishmaniose Canine : ce que doit savoir le Pharmacien d'officine

Présentée et soutenue publiquement

Le 30 juin 2009

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Clémence LOUIS**

née le 22 Juillet 1984 à Nancy (54)

Membres du Jury

Président : Mr Christophe GANTZER, Professeur de microbiologie environnementale, Faculté de Pharmacie de Nancy

Juges : Mr Jean-Marie BARADEL, Docteur ES Sciences Pharmaceutiques, Directeur de thèse
Mr Jean-Pierre BRIGEOT, Docteur Vétérinaire

UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN
Chantal FINANCE
Vice-Doyen
Francine PAULUS

Président du Conseil de la Pédagogie
Pierre LABRUDE
Responsable de la Commission de la Recherche
Jean-Claude BLOCK
Directeur des Etudes
Gérald CATAU

Responsable de la Commission des Relations Internationales
Janine SCHWARTZBROD
Responsable de la Communication
Francine KEDZIEREWICZ
Responsable de la Commission Hygiène Sécurité
Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine : Gérald CATAU

Responsables de la filière Industrie : Isabelle LARTAUD
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du CEPH : Jean-Michel SIMON
(Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier)

Doyen Honoraire : Claude VIGNERON

Professeur Emérite : Gérard SIEST

Professeurs Honoraires

Thérèse GIRARD
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
François MORTIER
Maurice PIERFITTE
Louis SCHWARTZBROD

Maîtres de Conférences Honoraires

Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Andrée IMBS
Marie-Hélène LIVERTOUX
Jean-Louis MONAL
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Assistante Honoraire
Marie-Catherine BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER ……. Pharmacie clinique
Alain BAGREL ……. Biochimie
Jean-Claude BLOCK …… .. Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON ……. Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE …… Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL ……... Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Marie-Madeleine GALTEAU…… Biochimie clinique
Christophe GANTZER ……. Microbiologie environnementale
Max HENRY ……. Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU ……Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE …….. Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Dominique LAURAIN-MATTAR……. Pharmacognosie
Isabelle LARTAUD…… Pharmacologie
Pierre LEROY…….Chimie physique générale
Philippe MAINCENT……. Pharmacie galénique
Alain MARSURA……... Chimie thérapeutique
Patrick MENU……..... Physiologie et physiopathologie humaine
Jean-Louis MERLIN……...Biologie cellulaire oncologique
Alain NICOLAS……. Chimie analytique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS……. Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN…… Biochimie, Biologie moléculaire
Jean-Michel SIMON……... Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Claude VIGNERON……... Hématologie, Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Monique ALBERT……..Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS…… Parasitologie
Mariette BEAUD…… Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT…….Communication et Santé
Michel BOISBRUN…… Chimie thérapeutique
Catherine BOITEUX……...Biophysique, Audioprothèse
François BONNEAUX……... Chimie thérapeutique
Cédric BOURA……... Physiologie
Gérald CATAU……... Pharmacologie
Jean-Claude CHEVIN……Chimie générale et minérale
Igor CLAROT…… Chimie analytique
Jocelyne COLLOMB…….. Parasitologie, Organisation animale
Joël COULON…… Biochimie
Sébastien DADE…… Bio-informatique
Dominique DECOLIN…… Chimie analytique
Béatrice DEMORE……. Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU……. Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Florence DUMARCAY…….. Chimie thérapeutique
François DUPUIS……... Pharmacologie
Raphaël DUVAL…… Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE…… Hématologie

Adel FAIZ…….. Biophysique-accoustique
Luc FERRARI…… Toxicologie
Stéphane GIBAUD……. Pharmacie clinique
Françoise HINZELIN……. Mycologie, Botanique
Thierry HUMBERT…… Chimie organique
Frédéric JORAND…….. Santé et Environnement
Francine KEDZIEREWICZ…… Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT……Informatique, Biostatistiques
Brigitte LEININGER-MULLER…… Biochimie
Faten MEHRI-SOUSSI…….....Hématologie biologique
Christophe MERLIN……...Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU…… Pharmacognosie
Maxime MOURER……. Pharmacochimie supramoléculaire
Dominique NOTTER……..Biologie cellulaire
Francine PAULUS……..Informatique
Christine PERDICAKIS……. Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO……... Pharmacologie
Virginie PICHON……... Biophysique
Anne SAPIN……... Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER…… Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY…… Santé publique
Gabriel TROCKLE……. Pharmacologie
Noëlle VAULTIER…….Biodiversité végétale et fongique
Mohamed ZAIOU……... Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI…… Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER……. Sémiologie

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD…….. Anglais

ASSISTANT

Annie PAVIS…….. Bactériologie

SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITE (SCD)

Anne-Pascale PARRET…….. Directeur
Jeannine GOLEC……. Responsable de la section Pharmacie Odontologie

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

> **D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**
>
> **D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**
>
> **De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

A Monsieur Jean-Marie Baradel
Docteur ES Sciences Pharmaceutiques
Pour m'avoir fait l'honneur de me proposer et d'encadrer ce travail
Hommages respectueux.

A Monsieur Christophe Gantzer
Professeur de microbiologie environnementale
Pour votre disponibilité et le partage de vos connaissances
Qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse
Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Jean-Pierre Brigeot
De l'Ecole Vétérinaire de Maison Alfort
Pour son expérience professionnelle
Qui a bien voulu juger ce travail et participer à ce jury
Toute ma gratitude.

A tous les vétérinaires ayant répondu à mon questionnaire
Sans qui ce travail n'aurait été possible
Sincères remerciements.

A Sébastien
Pour avoir participé à la mise en page de ma thèse.

A Monique
Pour m'avoir aiguillée dans cette voie et pour tous ses conseils.

A tous mes amis (ils se reconnaîtront !)
A nos galères, nos délires, nos bonheurs.

A mes parents
A ma famille
Pensées.

A Pascale et Pascale
La première pour le papier et ses corrections, la seconde pour prêter à ce jour et bien d'autres ses talents gastronomiques.

A ma sœur, Aurélie
Pour m’avoir encouragée sur cette voie qui aboutit ce jour
Pour ses talents de cuisinière.

A Basile, Calyps, Brindille et tous les flatodino de l’espace intersidéral
Pour leur bonheur partagé et à venir.

A KMB

A Vincent
A notre rencontre, à Sully, au bouton d’or
A nos doux moments partagés
Pour m’avoir aidé et (sup)porter dans mes études
Pour tout ce que tu fais pour moi
Un grand Merci.

A Guillaume
Aux parties de moto chicco avec calyps
A tous les moments partagés
Tu nous manques.

PLAN

INTRODUCTION 1

I. L'AGENT PATHOGENE 14
1. Le vecteur : le phlébotome 14
1.1. Classification 14
1.2. La morphologie 16
1.3. Biologie 17
2. Le parasite 20
2.1. Les différentes formes 20
2.2. Interactions immunologiques 23
2.3. Les parasites chez le vecteur 24
2.4. Le cycle des parasites 25
2.5. Devenir des parasites chez les hôtes vertébrés 28
3. Les hôtes réservoirs 28
3.1. Le chien, réservoir domestique 29
3.1.1. Les chiens de chasse 30
3.1.2. Les chiens de garde 30
3.1.3. Les chiens de compagnie 31
3.2. Le renard, réservoir sylvatique 31
3.3. Les réservoirs occasionnels 32

II. EPIDEMIOLOGIE 32
1. Dans le monde 32
1.1. La zone méditerranéenne 34
1.2. Algérie 35
1.3. Chypre 35
1.4. Egypte 35
1.5. Grèce 36
1.6. Israël 36
1.7. Italie 36
1.8. Liban 37
1.9. Malte 37
1.10. Maroc 37
1.11. Portugal 38
1.12. Espagne 38
1.13. Syrie 38
1.14. Tunisie 39
1.15. Turquie 39
2. En France 39
3. Evolution de la maladie et changements climatiques 41

III. PATHOGENIE CHEZ LE CHIEN 43
1. Manifestations cliniques 43
1.1. Symptômes 43
1.2. Manifestations cutanéo-muqueuses 45
1.3. Manifestations oculaires 47
1.4. Manifestations viscérales (autres que rénales) 48
1.5. Manifestations rénales 48

2. Diagnostic de présomption 50
2.1. Mise en évidence directe du parasite en microscopie optique 51
2.2. Coloration 52
2.3. Rate 54
3. Diagnostic différentiel 54
4. Diagnostic immunologique 56
4.1. Immunofluorescence indirecte 56
4.2. Technique ELISA 57
4.3. Test au latex (= immunoprécipitation) 58
4.4. Kits de diagnostic direct rapide 59
4.5. Limites des examens sérologiques 60
4.6. Technique de Polymerase Chain Reaction (PCR) 61
5. Examens complémentaires pouvant aider au diagnostic de la leishmaniose 62
5.1. L'électrophorèse des protéines sériques (EPS) 62
5.2. Les éléments mineurs 63
5.2.1. Numération / formule sanguine 63
5.2.2. Bilan rénal 63
5.2.3. Bilan hépatique 63
5.2.4. Taux d'Ac anti-nucléaires (ACAN) 63
5.2.5. Examen cytologique 64
6. Quel est le meilleur examen complémentaire? 65
7. Conclusion 67

IV. CAS CLINIQUES 68

V. TRAITEMENT 72
1. Antimoniate de méglumine 74
2. Allopurinol 75
3. Combinaison allopurinol et antimoniate de méglumine 76
4. Amphotéricine B (AmB) 77
4.1. Solution d'Amphotéricine B (Fungizone®) 79
4.2. AmB dans des émulsions de lipides 80
5. Pentamidine 80
6. Aminosidine 81
7. Autres composés actifs 81
7.1. Miltéfosine 81
7.2. Corticothérapie 82
7.3. Marbofloxacine 82
7.4. Diététique 82

VI. PROPHYLAXIE 85
1. Vaccination 85
2. Lutte anti-vectorielle 86
2.1. Prévention : le seul moyen de lutte contre la leishmaniose 87
2.2. Prévenir les piqûres 87
2.2.1. Insecticides 87
2.2.2. Campagne d'information : mettre en place une prévention efficace, informer le public 91
3. Améliorer les dispositifs de surveillance 92

VII. ENQUETE DESCRIPTIVE SUR LES CAS DE LEISHMANIOSE CANINE RENCONTRES CHEZ LES VETERINAIRES DE MEURTHE ET MOSELLE ET DES VOSGES 92
1. Questionnaire et zone d'étude 93
2. Population 94
3. L'enquête 95
4. Résultats 95
5. Conclusion sur cette enquête 97

CONCLUSION 86

BIBLIOGRAPHIE 88

INTRODUCTION

Avec environ 8 millions de chiens, la France est au 5ème rang des pays d'Europe en terme de population canine. Ceux-ci peuvent être atteints de différentes parasitoses dont une en particulier : la leishmaniose, fréquente sur le pourtour méditerranéen et qui dans certains cas exceptionnels peut toucher l'Homme en France.
Le Pharmacien, en tant que professionnel de santé, doit pouvoir apporter des informations pertinentes sur cette zoonose, tant sur le plan de l'histoire de la maladie que sur les conseils et les moyens prophylactiques.

L'objectif de ce travail est de présenter la leishmaniose canine.
Il s'agit d'une protozoose, infectieuse, inoculable, due au développement dans les cellules des phagocytes mononucléés de parasites du genre *Leishmania*. Cette maladie qui touche l'Homme et l'animal est une maladie vectorielle, les protozoaires étant transmis par des insectes diptères nématocères du genre *Phlébotomus*. Le chien constitue le réservoir de la maladie, le parasite y proliférant de manière abondante.

La leishmaniose se manifeste de plusieurs façons : chez l'Homme ; on distingue la leishmaniose viscérale, la leishmaniose cutanée localisée ou diffuse et la leishmaniose cutanéo-muqueuse ; chez le chien la maladie est protéiforme.
Cette maladie est endémique dans 88 pays du monde, principalement dans la zone intertropicale et les zones tempérées de l'Europe, de l'Afrique du Nord et de l'Asie.
C'est une maladie dynamique dont les modalités de transmission sont en évolution en relation avec les changements des pratiques sanitaires, écologiques, éco-climatiques. Tous ces facteurs ont une incidence sur la répartition des pathogènes et de leurs vecteurs.

Notre travail sera divisé en sept parties.
La 1ère partie étudie le phlébotome, sa classification, sa morphologie, sa biologie, les hôtes…
La 2ème partie aborde la répartition des phlébotomes tant dans le monde qu'en France et l'évolution de la maladie face aux changements climatiques.
La 3ème partie s'attache aux manifestations cliniques chez le chien et aux méthodes de diagnostic.

La 4ème partie exposera deux cas cliniques de chiens atteints de leishmaniose.

La 5ème partie explique comment traiter la maladie: les molécules seules ou en association.

La 6ème partie étudie la prophylaxie à instaurer face à cette zoonose, la vaccination, la lutte anti-vectorielle.

La 7ème partie exposera les résultats d'une enquête épidémiologique, clinique, diagnostique, prophylactique sur la leishmaniose canine, enquête réalisée par le biais d'un questionnaire adressé aux vétérinaires de Meurthe et Moselle et des Vosges afin d'enquêter sur la distribution géographique des cas de leishmaniose.

L'AGENT PATHOGENE

Le vecteur : le phlébotome

Maladies à focalisation vectorielle, les leishmanioses sont transmises par le phlébotome (seule la femelle est hématophage).

Classification

Il s'agit d'un diptère (une seule paire d'ailes fonctionnelles, métamorphoses complètes) du sous-ordre des Nématocères (antennes de dix articles au moins) de la famille des Psychodidae et du genre *Phlebotomus.*

Il existe une spécificité zoologique relativement étroite au niveau du couple leishmanie/phlébotome, chaque espèce de leishmanies possédant un spectre d'hôtes relativement étroit. Ainsi, les leishmanies de l'Ancien Monde (sud de l'Europe), Afrique, Proche-Orient et Asie sont transmises par le genre *Phlebotomus* et celle du Nouveau Monde (Amérique du Nord, du Sud et Centrale) par le genre *Lutzomya*. En ce qui concerne l'Ancien Monde, les vecteurs de *Leishmania infantum* appartiennent au sous-genre *Larroussius* et secondairement *Adlerius*.

Genres	Sous-genres	Espèces incriminées	Espèces de *Leishmania* transmises
Phlébotomes	Phlebotomus	papatasi, duboscqi	major
	Paraphlebotomus	sergenti	tropica
		alexandri	donovani
		alexandri	(major)
	Synphlebotomus	martini	donovani
		ansarii	(major)
	Larroussius	perniciosus, ariasi, perfiliewi, neglectus, langeroni	infantum
		longipes, pedifer	aethiopica
	Adlerius	chinensis	infantum
	Euphlebotomus	argentipes	donovani

Tableau 1 [29]

Sous-genres et principales espèces de Phlebotomus impliqués dans la transmission de diverses leishmanioses, dans l'Ancien Monde.

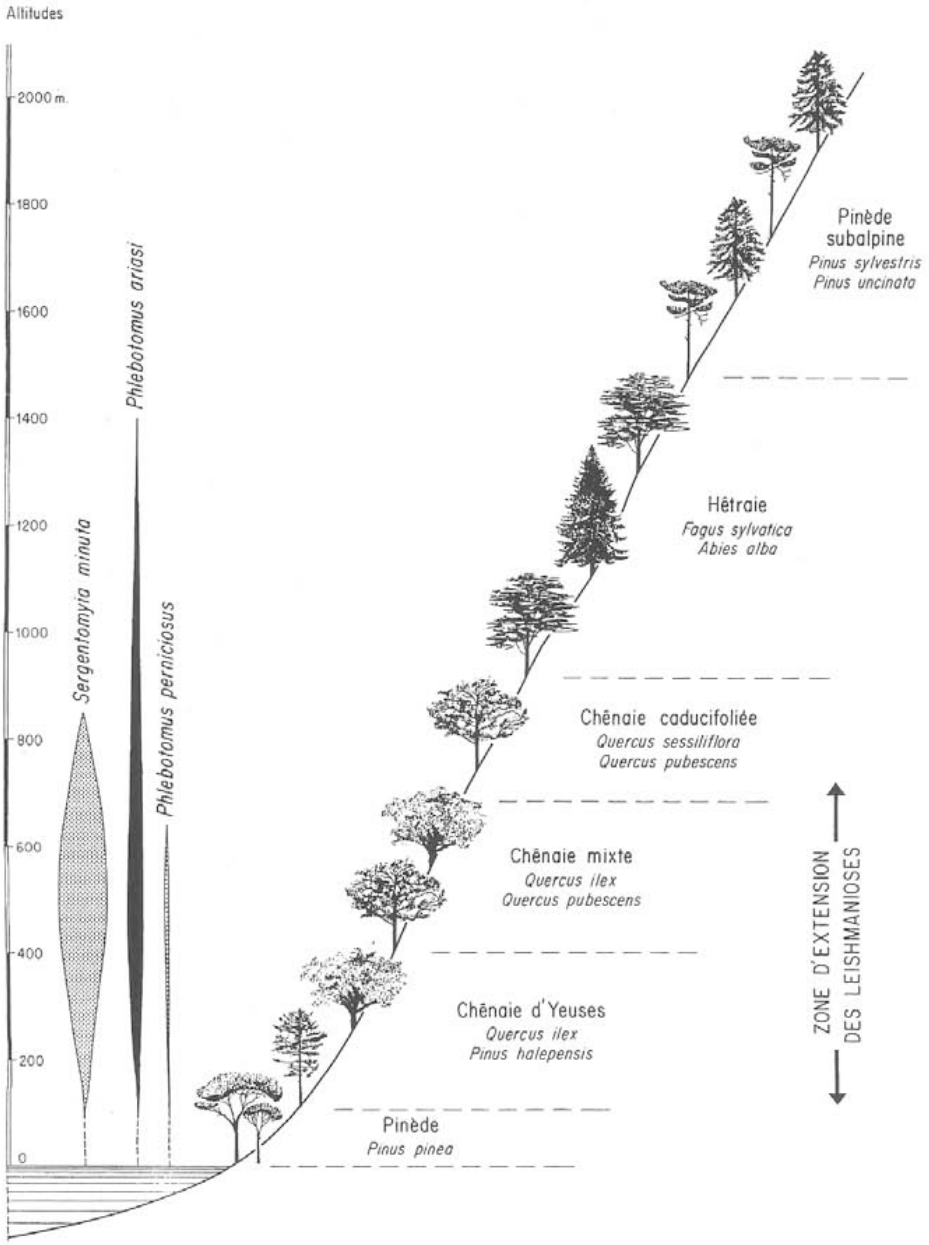


Figure 1 [29]

Répartition et fréquence en Languedoc de Phlebotomus perniciosus, Phlebotomus ariasi et Sergentomya minuta (espèce herpétophile, non anthropophile) en fonction de l'altitude et des étages de végétations. La zone d'extension des leishmanioses intéresse essentiellement la chênaie d'Yeuse et la chênaie mixte.

Les vecteurs de *Leishmania infantum* sont plus nombreux que ceux des autres leishmanies. On dénombre au moins cinq espèces du sous-genre *Larroussius*. Seuls quelques facteurs mésologiques, notamment le climat et la végétation, sont connus comme régissant la distribution des phlébotomes.

La morphologie

Les phlébotomes adultes sont des insectes de petite taille : 1,5-3 mm au maximum, de couleur pâle, très velus, d'aspect bossu et capable de passer au travers des mailles d'une moustiquaire. Faisant partie de la famille des diptères, il est doté de deux ailes, un appareil buccal muni d'une trompe assez courte servant à piquer et à sucer le sang. Ses ailes sont couvertes de soie, elles sont de forme lancéolée, relevées sur le dos au repos et ses pattes sont longues et grêles. Il est de couleur beige tirant sur le jaunâtre et à de gros yeux noirs. Ses longues antennes velues, son thorax couvert de poils ainsi que son abdomen suffisent à le différencier des moustiques.

Les œufs sont allongés, bruns et mesurent de 0,3 à 0,4 mm.

Les larves sont vermiformes, longues d'environ 8 mm et munies de pièces buccales broyeuses. Le tégument du thorax et de l'abdomen, blanchâtre, est orné de soies courtes et trapues.

Les nymphes, blanchâtres également, comportent un céphalothorax et un abdomen dont les derniers segments restent habituellement insérés dans la dépouille larvaire. [36] [55] [70]

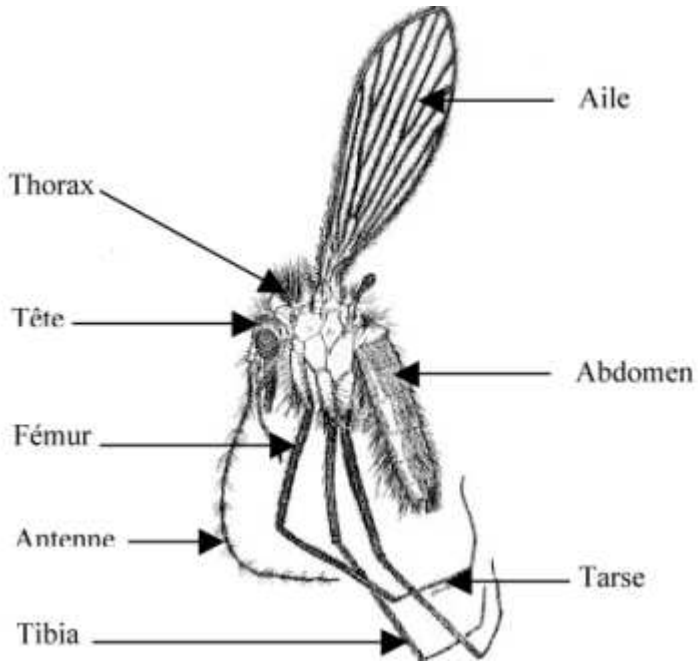


Figure 2 [72]

Dessin de phlébotome , aspect général.

Figures 3 et 4 [36]
Photographies de phlébotome.

Biologie

Les phlébotomes présentent un cycle de vie holométabole, le stimulus qui provoque l'oviposition est le contact avec une surface humide, leurs œufs se développeront ensuite en larves sur le sol, dans les terriers, les nids, la poussière des anfractuosités de rochers ou de vieux murs, les tas de débris végétaux, puis on pourra observer une pupe et enfin un imago. [36]

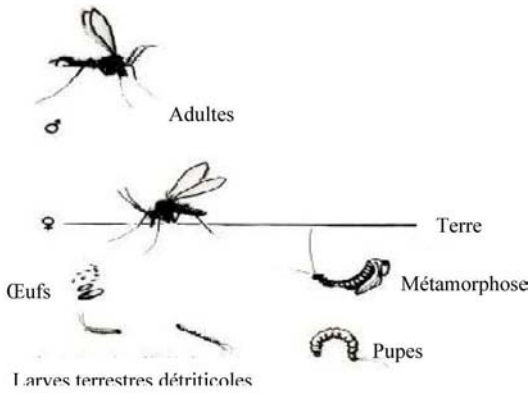


Figure 5 [58]
Cycle de vie du phlébotome.

Ils vivent principalement dans les régions de collines entre 100 et 500 mètres d'altitudes. De mœurs nocturnes, les phlébotomes adultes gîtent durant la journée dans des endroits retirés et sombres (terriers, étables, clapiers, niches et même dans les maisons) et dans des endroits relativement humides (source, ruisseau, puits, fontaine…). Ils s'activent dès le crépuscule et pratiquement toute la nuit. Comparés aux moustiques les phlébotomes sont de mauvais voiliers, ils se déplacent par des vols courts avec des arrêts fréquents ; leur rayon maximum de déplacement, variable selon les espèces est d'environ un kilomètre. Ils ne commencent à

s’agiter qu’à la tombée du jour si la température est suffisamment élevée (19-20°C), s’il n’y a pas de vent (limite : 1 m/sec) et si le degré hygrométrique est élevé. Ces exigences thermiques expliquent la répartition des leishmanioses dans l’espace et dans le temps : elles sont transmises dans les régions tropicales, mais seulement durant la saison chaude dans les régions tempérées. Certaines espèces sont attirées par la lumière, le plus souvent de faible intensité, d’autres ne manifestent que peu ou pas de phototropisme. De plus certaines espèces sont nettement endophiles, et d’autres préfèrent l’extérieur.
Seule la femelle est hématophage, elle se nourrit sur les mammifères, les oiseaux, les reptiles ou les batraciens. Certaines espèces sont très éclectiques, d’autres sont plus ou moins spécialisées dans l’exploitation d’un ou de plusieurs hôtes. Les espèces qui piquent l’Homme sont généralement également zoophiles, ce qui explique le rôle des phlébotomes dans la transmission de ces zoonoses que sont les leishmanioses. La femelle recherche pour se nourrir, un animal à sang chaud ; de plus se nourrir de sang est utile à la maturation de ses œufs. Elle est très attirée par le chien qu’elle pique plusieurs fois au niveau du museau et de la face interne de l’oreille. Le sang ainsi absorbé lui permet d’effectuer son développement et de pondre.

Lorsque l’on pratique des analyses du contenu stomacal, il n’est pas rare de trouver du sang de diverses origines. En effet, lorsqu’un phlébotome est dérangé au cours de son repas, il peut le compléter soit en piquant aussitôt le même hôte (ce qui explique certaines lésions multiples de leishmanioses cutanées) soit en piquant un autre hôte. Il faut trente secondes à cinq minutes pour que l’estomac d’un phlébotome soit rempli, ce qui l’expose à de fréquents dérangements!
Chez l’Homme ce sont les parties découvertes qui sont exposées aux piqûres (visage, cou, mains, pieds) et chez les animaux ce sont les zones les moins velues (museau, oreilles). La piqûre est douloureuse mais l’intensité des réactions de l’hôte varie selon l’espèce de phlébotomes en cause (douleur, apparition d’une papule ou d’une tache hémorragique). Lorsque le phlébotome pique un chien atteint de leishmaniose (les chiens porteurs du parasite sont dits « séropositifs »), il ingurgite avec son repas sanguin, un certain nombre de parasites. Ces leishmanies vont se multiplier dans le tube digestif puis remonter jusqu’au niveau des pièces buccales de l’insecte vecteur. En moyenne, un délai de quinze jours est nécessaire pour que le phlébotome, après un repas contaminé, puisse transmettre à son tour la maladie à un chien sain.

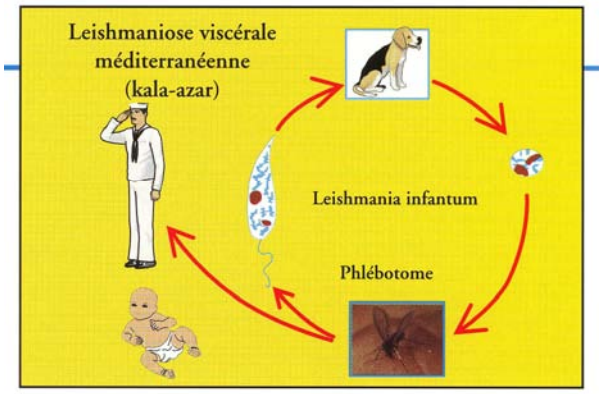


Figure 6 [36]
Devenir des parasites chez les hôtes vertébrés.

L'hiver, les moustiques disparaissent mais les chiens contaminés sont devenus réservoirs de la maladie permettant à la leishmaniose de réapparaître chaque année avec les beaux jours.
La parasitose connaît une transmission saisonnière, liée à l'activité des phlébotomes du printemps à l'automne.
Certaines lignées de chiens paraissent prédisposées à l'infection alors que d'autres animaux semblent mieux résister. Un gène déterminant la résistance naturelle vis-à-vis d'agents pathogènes parmi lesquels les leishmanies, serait identifié dénommé NRAMP1 (Natural Resistance Associated Macrophage Protein).

Sur le pourtour méditerranéen occidental, deux vecteurs abondants interviennent : *Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus ariasi*. Des études ont démontré les liens étroits entre d'une part la distribution et le nombre de phlébotomes, d'autre part les zones bioclimatiques. Dans le Sud de la France, *P. ariasi* s'impose en « vecteur habituel » des leishmanioses, ce qu'appuient des arguments écologiques (indirects) et des arguments épidémiologiques directs (réceptivité).

Figure 7 [70]
Répartition française de Phlébotomus perniciosus.

Figure 8 [70]
Répartition de Phlébotomus ariasi.

Le parasite

Les différentes formes

Protéiformes, les leishmanies se présentent chez leurs hôtes sous deux stades morphologiques principaux au cours de leur cycle évolutif : les promastigotes et les amastigotes.

✳ La forme promastigote (ou leptomonas)

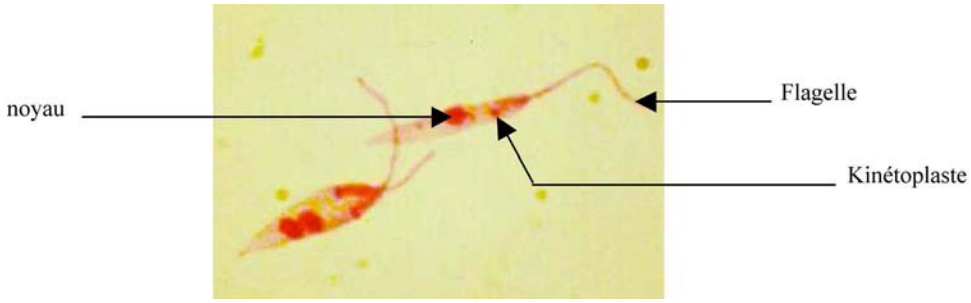


Figure 9 [36]
Forme promastigote, photo issue d'un prélèvement du TD.

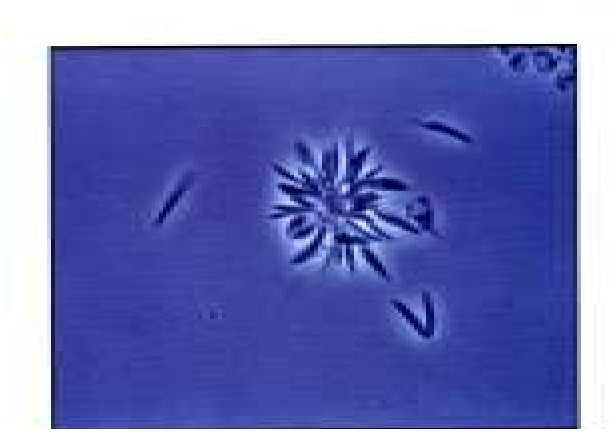


Figure 10
Forme promastigote chez le vecteur et en culture.

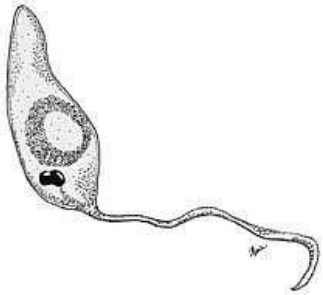


Figure 11 [36]

Forme promastigote.

Les promastigotes sont des parasites extracellulaires mobiles vivant dans le tube digestif de diptères hématophages piqueurs. Ils présentent un corps plus ou moins fuselé de 5 à 20 µm de longueur et de 1 à 4 µm de largeur prolongé par un flagelle qui peut atteindre jusqu'à 20 µm de longueur et qui émerge de leur pôle antérieur.

Dans ces formes parasitaires, le kinétoplaste, une partie spécialisée du compartiment mitochondrial qui contient l'ADN de cet organite, est situé entre le noyau et la base du flagelle.

✳ La forme amastigote

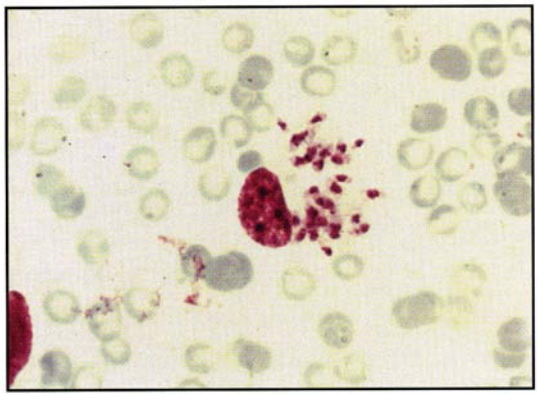


Figure 12 [36]

Forme amastigote, dans une cellule infectée.

Ultra structure d'une forme amastigote

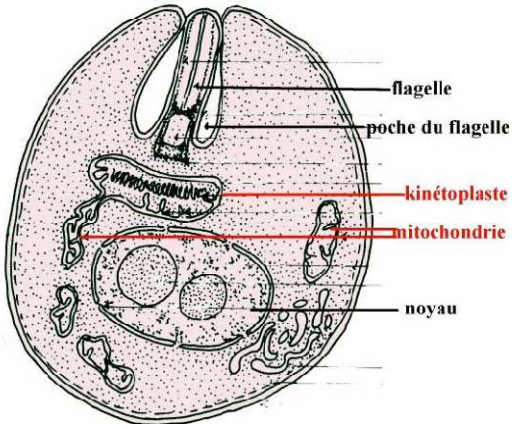


Figure 13

Forme amastigote chez le vertébré.

Leishmanie *in situ* coloration MGG 3-4x2µm

[redacted]

Noyau [redacted] Kinétoplaste

Figure 14 [39]

Relation hôte-parasite chez le vertébré.

Les mécanismes qui règlent les relations sont mal connus mais on sait que la réceptivité aux leishmanies varie beaucoup à l'intérieur d'une même espèce. Ainsi les souris sont très réceptives à l'infection par *L. donovani*.

La sensibilité est liée à un couple d'allèles : Lsh r (résistant) incomplètement dominant et Lsh s (sensible) récessif, situé sur le chromosome 1. Ce gène s'exprime au niveau des macrophages hépatiques et son action est indépendante des lymphocytes T. La sensibilité *à L. major* est régie par un autre gène dont l'action est sous la dépendance des lymphocytes T.

Ainsi, certaines espèces de leishmanies, telles *L.mexicana* et *L.aethiopica* qui généralement ne donnent que des lésions cutanées réduites chez l'Homme, peuvent être à l'origine de formes anergiques étendues et graves. En outre, il est certain que les leishmanies peuvent persister durant des mois, voire des années, chez les malades guéris ainsi que chez des porteurs sains. Cette possibilité explique les sérologies positives observées chez des sujets asymptomatiques au cours des enquêtes sérologiques, ainsi que l'apparition de leishmaniose longtemps après la contamination à la faveur d'un épisode d'immunodépression.

Les promastigotes inoculés par le phlébotome doivent échapper aux polynucléaires qui les

phagocytent et les tuent et à l'action lytique non spécifique du sérum, liée à l'activation du complément. Durant cette phase critique la salive de l'insecte jouerait un rôle protecteur. Pour le parasite, la seule voie de salut est la prise en charge par un phagocyte mononucléé (macrophages).
Celle-ci comporte trois étapes : attachement du promastigote à la cellule histiocytaire, phagocytose, transformation des formes ingérées en amastigotes.
Les amastigotes sont adaptés à la survie à l'intérieur des cellules histiocytaires à condition toutefois que celles-ci ne soient pas activées par l'interleukine 2 et l'interféron gamma, ce qui explique les différences de réceptivité en fonction des potentialités immunitaires du sujet infesté.

Dans la cellule hôte, les amastigotes se trouvent à l'intérieur des vacuoles parasitophores qui possèdent la particularité de fusionner avec les lysosomes.
Le pH maximal de cette vacuole est proche de 5 ce qui correspond au pH maximal pour l'activité métabolique de l'amastigote (pour le promastigote le pH maximal est de 7).

L'apparition d'anticorps chez l'hôte vertébré au cours de l'infestation varie en fonction des leishmanies et des formes cliniques. Dans la leishmaniose viscérale, l'immunité cellulaire est nulle, mais les titres d'anticorps sériques spécifiques sont élevés et il existe une sécrétion importante d'anticorps polyclonaux non spécifiques. Dans la leishmaniose cutanée, l'immunité cellulaire s'installe tardivement dans la forme cutanée simple ou très lentement, voire jamais dans la forme cutanée diffuse.
Le titre des anticorps est variable, en fonction de l'espèce de leishmanie en cause.

Interactions immunologiques

L'immunité humorale aboutit à la production d'anticorps à des taux élevés au cours de la leishmaniose viscérale, faibles au cours de la leishmaniose cutanée américaine et indétectables par les techniques courantes au cours de la plupart des formes cutanées de l'Ancien Monde. La présence d'anticorps ne suffit donc pas à une protection efficace.

Les macrophages infectés ont une capacité de présentation des antigènes réduite. L'immunologie de la leishmaniose est dominée par la notion de spectre qui repose sur des arguments cliniques et histopathologiques.

Le modèle murin d'infection par *L.major* a apporté une consolidation immunologique à cette notion de spectre. En effet, la résolution de l'infection sur ce modèle demande la prolifération d'une sous-population de lymphocytes T helper type 1 (L Th1) qui sécrètent ou expriment sur leur membrane des cytokines capables d'activer les macrophages infectés. Cette activation permet au macrophage d'éliminer le parasite. La prolifération de lymphocytes T helper type 2 (L Th2) exacerbe la maladie, apparemment par l'intermédiaire d'interleukines (IL) qui inhibent tant les macrophages que la sécrétion d'interleukines activatrices par les L Th1. L'interféron gamma joue un rôle déterminant dans la prolifération de L Th1 protecteurs et l'IL4 joue un rôle comparable dans la prolifération de L Th2 qui favorise la progression de la maladie. L'IL1 et le TGF-b inhibent les sécrétions de cytokines par les L Th1. Les effecteurs matures L IL1 et L Th2 peuvent donc déterminer le spectre de réponse au cours d'une leishmaniose cutanée en l'absence de cellules B et d'autres sous-populations T. La guérison d'infections actives a été obtenue chez la souris par des méthodes immunologiques comme l'injection d'anticorps anti-IL1. Certaines fractions antigéniques protègent les souris Balb/c d'une réinfestation.

L'espoir d'une stimulation antigénique ou de l'administration de cytokines pourrait aboutir vers des vaccins et vers l'immunothérapie. [6]

Les parasites chez le vecteur

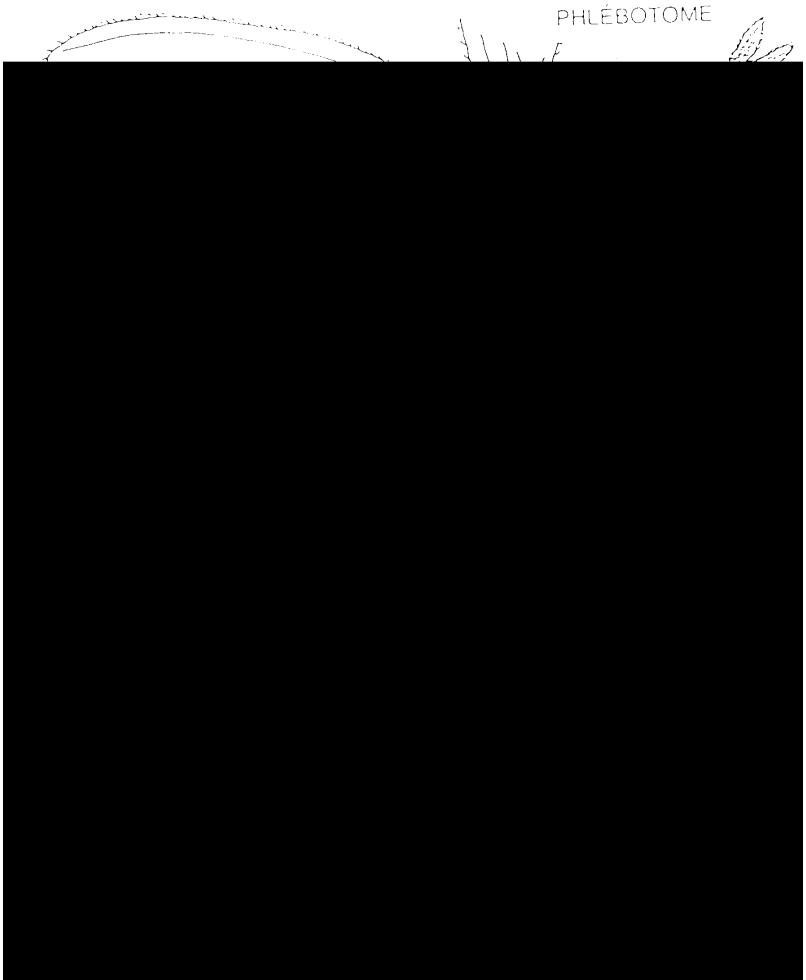


Figure 15 [19]

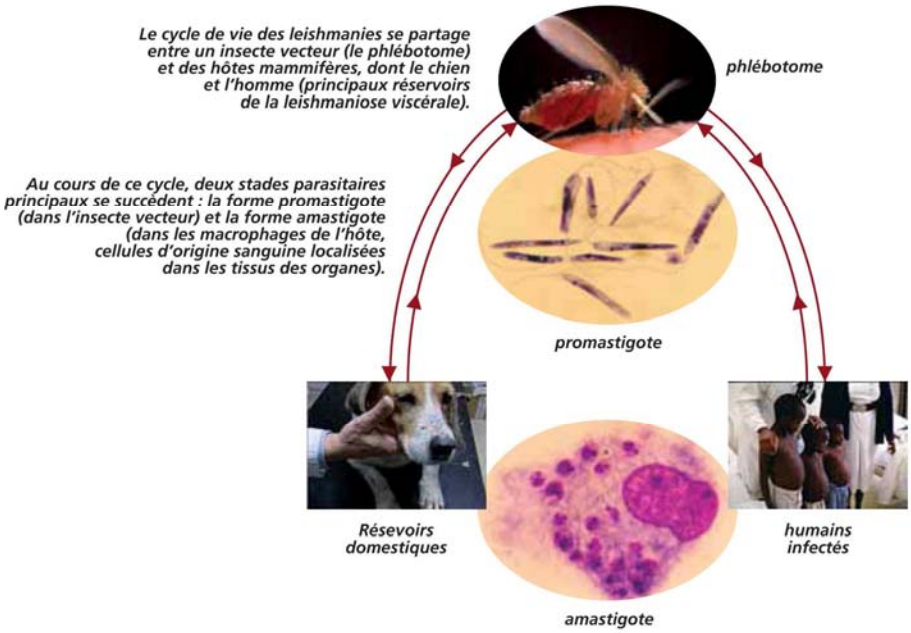
Cycle évolutif chez les différents hôtes : le chien et le phlébotome.

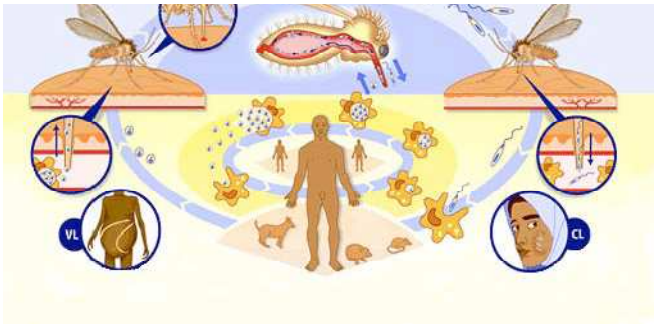
L. infantum a chez le chien un tropisme dermotrope et viscérotrope. Le pouvoir pathogène est lié à l'infection de cellules faisant partie du système immunitaire ce qui provoque un dérèglement immunopathologique.

Comme tous les parasites, les leishmanies possèdent une structure antigénique complexe. Le revêtement antigénique varie entre les promastigotes infectantes et les amastigotes, ce qui constitue un mécanisme d'échappement à la reconnaissance. Une réponse immunitaire cellulaire et humorale fait suite à l'infection des chiens.

Le phénomène immunitaire de la pathologie des leishmanies permet d'expliquer la présence de chiens "résistants" et de chiens "sensibles".

Le cycle des parasites





Figures 16 et 17 [72] [57]
Cycle des leishmanioses cutanée et viscérale.

Le cycle des leishmanioses est un cycle hétéroxène présentant deux hôtes, un hôte invertébré (phlébotome) et un hôte vertébré (Homme, chien, renard...).

C'est au cours du repas sanguin pris sur un animal ou un sujet infecté que le phlébotome absorbe les leishmanies sous la forme amastigote, parasite intracellulaire du système réticulo-histiocytaire du sang et de la peau des vertébrés. La rupture des cellules hôtes intervient au cours de l'ingestion et les amastigotes sont libérées.

Chez les insectes, le repas sanguin est rapidement entouré par la membrane péritrophique sécrétée par les cellules intestinales abdominales.

En effet, au cours des 24-48 heures qui suivent le repas sanguin, les leishmanies se multiplient une ou deux fois dans l'intestin du phlébotome sous la forme amastigote. Il semblerait qu'il existe dans le sang de l'hôte vertébré un facteur inhibant leur transformation en forme promastigote, caractéristique de la phase hôte-invertébré, qui ne pourrait intervenir qu'après destruction de ce facteur par les enzymes protéolytiques sécrétées par l'insecte. Ainsi, ce n'est qu'après ce temps de latence que les formes promastigotes apparaissent et se multiplient. Au bout de 3-4 jours, elles s'échappent de la membrane péritrophique qui est déchirée et gagnent leur lieu de multiplication qui varie en fonction de l'espèce de leishmanies. Ce critère a permis la mise en place d'une classification des *Leishmania* en : Hypolaria (au niveau de l'intestin postérieur) ; Péripylaria (de part et d'autre du pylore) ; Suprapylaria (au niveau de l'intestin antérieur et moyen.)

Les deux derniers types de leishmanies concernent des espèces de leishmanies de mammifères.

Les leishmanies gagnent ensuite les pièces buccales. La durée du cycle chez le phlébotome est de 4 à 7 jours suivant la température. Le vecteur peut alors transmettre le parasite à un autre animal ou à l'Homme. Les promastigotes « injectés » seront transformés en amastigotes lors de leur passage en phagolysosome, dans lesquels ils se multiplieront entraînant la lyse cellulaire successive des macrophages du sang ou de la peau de l'hôte vertébré.
Les phlébotomes infectés ont des difficultés à prendre leur repas sanguin ce qui peut être un facteur de multiplication des piqûres et donc d'augmentation de transmission.

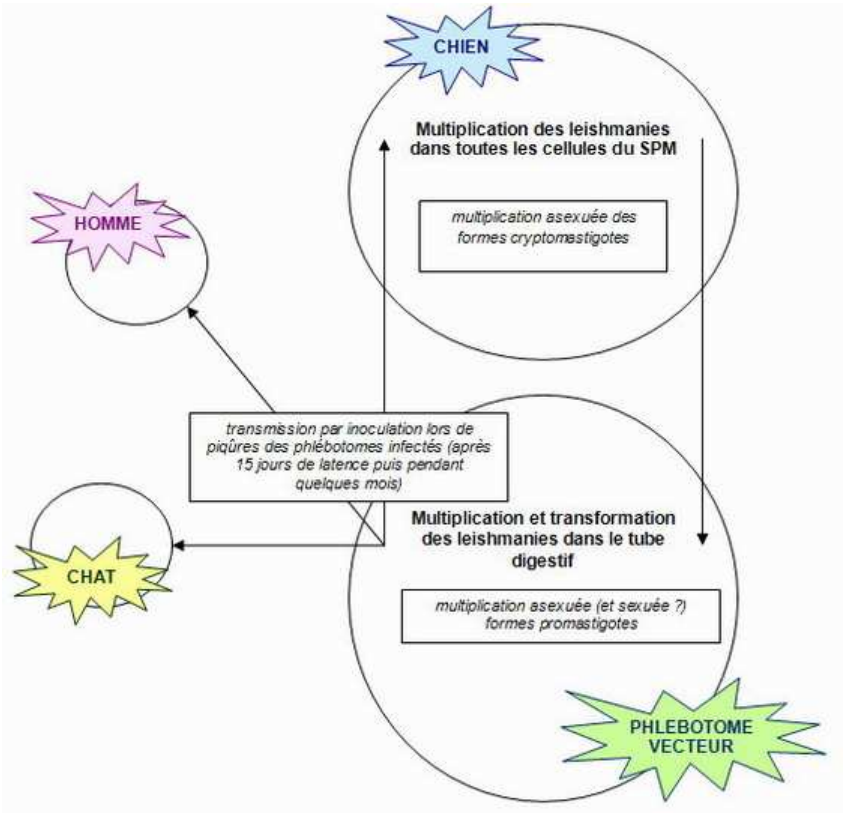


Figure 18 [2]
Cycle des leishmanioses cutanée et viscérale.

A ce cycle, s'ajoute une autre possibilité : il existerait une transmission vénérienne de la leishmaniose selon une étude réalisée au Brésil et publiée en 2009. L'étude porte sur douze chiennes indemnes, ayant copulé avec des chiens infectés par *Leishmania chagasi* (agent de la leishmaniose viscérale en Amérique du Sud). Des examens en PCR ont montré que l'excrétion spermatique était intermittente. Trois chiennes ont présenté une séroconversion, six étaient positives en PCR 165 jours après le dernier coït. De cette étude, on peut en déduire qu'il existe bien une transmission vénérienne en l'absence de vecteurs.

Pour favoriser la pénétration de sa trompe, et l'afflux de sang au niveau du point de piqûre, le phlébotome injecte de la salive, salive qui a un rôle dans l'infestation puisqu'elle protège les leishmanies contre les défenses immunitaires de l'organisme. En effet, si elle permet la phagocytose du parasite par les macrophages, les capacités de ces derniers à détruire les leishmanies sont inhibées par la production de radicaux libres. Il semblerait que la salive de phlébotome inhibe la présentation des antigènes leishmaniens par les macrophages aux cellules T. Immédiatement après la piqûre du phlébotome, les promastigotes adhèrent à des récepteurs membranaires, sont phagocytés et se transforment en amastigote. Une fois installée dans la vacuole de phagocytose d'un macrophage, la leishmanie modifie les conditions physico-chimiques du phagolysosome, en particulier en inhibant ou en neutralisant les métabolites oxydatifs. Elle peut ainsi se multiplier sans être digérée. Les macrophages parasités libèrent les leishmanies qui seront alors phagocytées par d'autres cellules du système des phagocytes mononuclées. On peut retrouver des cellules parasitées au niveau de la moelle, de la rate, du foie, des ganglions, de la muqueuse digestive, de la peau... Chez la plupart des individus, homme ou chien, le développement est limité et ne se traduit par aucune manifestation clinique. Chez les individus sensibles (immunodépression, gène de susceptibilité, malnutrition), le parasite poursuit son développement, en particulier dans la moelle osseuse et dans la rate entraînant les signes cliniques classiques : fièvre, anémie, splénomégalie, adénopathies, amaigrissement, troubles cutanés. [36]

Les hôtes réservoirs

A l'exception des leishmanioses dues à *L. donovani* et *L. tropica* qui ne touchent que l'Homme, toutes les autres leishmanioses sont des zoonoses, c'est-à-dire des maladies communes à l'Homme et à divers mammifères domestiques ou sauvages.
Le réservoir de *Leishmania infantum* est connu, comme étant essentiellement canin. Dans toute la région méditerranéenne, le réservoir principal semble être constitué par les chiens domestiques, bien qu'un réservoir sylvatique soit également présent avec une prévalence de 55 % chez les renards.

Trois cas de figures peuvent se présenter :
- Le réservoir sauvage et un vecteur spécifique du parasite sont dans une même niche écologique intégrant un réservoir secondaire péridomestique et non l'Homme par défaut

d'anthropophilie de la part du vecteur ; la transmission humaine ne pourra alors se faire que par l'intermédiaire d'un autre vecteur qui présentera une anthropophilie plus marquée.
- Le réservoir sauvage et le vecteur sont seuls en syntopie. L'Homme ne pourra dès lors se contaminer qu'à l'occasion de contacts épisodiques avec le milieu naturel, lors d'activités de chasse, de cueillette ou professionnelles.
- Le réservoir sauvage, le vecteur et l'homme sont en syntopie au sein de la même niche écologique.

De cela découlent deux cas de figure :
- le parasite passera du réservoir primaire à l'Homme. Ces cas peuvent correspondre aux contaminations survenant à l'occasion de contacts permanents avec un milieu récemment « anthropisé » ou « rurbanisé », comme en périphérie des grandes villes proches des forêts primaires d'Amazonie ou dans les villages récemment implantés en zones défrichées.
- le cycle est amplifié par la présence d'un potentiel réservoir secondaire constitué par les animaux péri-domestiques qui peuvent assurer ainsi un rôle de relais au sein du complexe pathogène.

Seuls les mammifères ont été à ce jour trouvés porteurs de protozoaires appartenant au genre *Leishmania* pathogènes ou non pour l'Homme. Ils peuvent être réservoirs ou hôtes accidentels pour le parasite et diffèrent selon les régions. [39]

Le chien, réservoir domestique

Depuis longtemps considéré comme la clef de voûte des foyers secondaires de leishmaniose viscérale, le réservoir canin se divise au sens écologique en « classes sociales » qui ne sont pas impliquées de la même manière dans la dynamique du complexe leishmanien.
Le comportement du chien, profondément influencé par son mode de vie, intervient en effet souvent de façon décisive, ne serait-ce qu'en augmentant les probabilités de contact avec les vecteurs ou en permettant une circulation plus rapide du parasite. On peut donc schématiquement diviser la population canine en trois groupes : les chiens de chasse, les chiens de garde et les chiens de compagnie, comme le montre le tableau ci-dessous.

Classes	**Recensement Général (Hérault)**	**Leishmaniose canine**

Chiens de Chasse	17607	75 %	106	63 %
Chiens de Garde	4721	20 %	12	7 %
Chiens de Compagnie	1253	5 %	50	30 %

Tableau 2 [40]

Répartition par « classes sociales » des cas de leishmaniose canine du Languedoc-Roussillon.

Les chiens de chasse

Dans le pourtour méditerranéen, les chiens de chasse paient un lourd tribut à la leishmaniose viscérale (63 % des dépistages). Sur le plan épidémiologique, ils interviennent également au premier chef dans le processus de maintien et de propagation de l'endémie.

A cela trois raisons essentielles : - ils constituent la classe la plus représentée dans les départements méditerranéens, jusqu'à 75 % des chiens recensés dans l'Hérault.

- leurs activités les amènent à parcourir fréquemment les zones contaminées, et de ce fait à subir avec une plus grande probabilité la piqûre du vecteur infesté.

- enfin, contrastant avec l'étendue et l'activité des lésions cutanées, l'animal atteint conserve pendant plusieurs mois, sinon plusieurs années, un état général satisfaisant. Souvent il continue à chasser et par la même occasion à assurer une très large diffusion du parasite. De plus, dans les fermes, les villages et les petites villes, les chiens ont volontiers tendance à chasser pour leur propre compte pendant d'assez longues périodes et jusqu'à des dizaines de kilomètres de leur domicile. Au cours de ces divagations, les animaux gîtent évidemment à l'extérieur ou dans des abris naturels dont on connaît la richesse en phlébotomes. Ainsi, s'expliquerait le maintien du niveau minimal d'endémicité sur l'ensemble du foyer, la mobilité du réservoir compensant, dans une certaine mesure sa faible incidence in situ.

Les chiens de garde

Cette classe est schématiquement divisée en deux catégories :

- Les chiens préposés à la garde des maisons. Il s'agit, en principe, d'animaux sédentaires. En fait, les villageois souvent braconniers ou chasseurs utilisent volontiers les chiens de garde pour des chasses à courte distance. Ils sont alors exposés au même risque que les véritables chiens de chasse, il s'agit donc pour nous d'une même classe sociale. De plus, il est à noter que ces animaux disposent le plus souvent de niches rudimentaires, gîtes très appréciés des phlébotomes.

- Les chiens utilisés pour la surveillance et la conduite des troupeaux d'ovins (notamment en Languedoc-Roussillon). Ce sont les véritables chiens de garde. Contrairement aux précédents, ces animaux échappent à la contamination. Transhumant de juillet à septembre, ils évoluent, au cours de cette période éminemment critique, aux étages montagnards des massifs, où les probabilités de transmission sont très faibles en raison de la pauvreté des vecteurs. De ce fait cette classe sociale est peu touchée (7 % des dépistages).

Les chiens de compagnie

On peut distinguer trois catégories :

- Les chiens habitant les agglomérations de type rural, donc susceptibles, au même titre que ceux des classes précédentes, de contracter la maladie.
- Les chiens sédentaires, vivant toute l'année dans les grands immeubles des centres urbains, peu exposés à la contagion.

Ces deux catégories totalisent 30 % des cas dépistés.

- Les chiens étrangers à la zone endémique, mais y parvenant à l'occasion des vacances. Leurs chances de contamination sont grandes en raison de leur mode de vie (camping, gîtes ruraux), et ce, en période d'activité maximale des phlébotomes. Il est à noter que de tels cas échappent en général aux contrôles vétérinaires locaux en raison de la longue durée d'incubation de l'affection.

Le renard, réservoir sylvatique

Après avoir constaté l'infestation naturelle du renard, une étude des préférences alimentaires du « vecteur habituel », *Phlebotomus ariasi*, a été conduite sur le renard comparativement au Chien, aux Rongeurs et aux Reptiles. Pour ce faire, les animaux ont été mis en contact une nuit, sous une moustiquaire bordée, avec un certain nombre de phlébotomes non gorgés. Le matin, les femelles étaient recapturées et identifiées, et les résultats exprimés en pourcentage de femelles gorgées.

Cette méthode confirme la préférence trophique de *Phlébotomus ariasi* à l'égard du chien (91 %), on constate que le renard est exploité de manière non négligeable (55 %), à l'inverse des Lagomorphes (26 %), des rongeurs (Lérot, Loir, Mulot) et des Reptiles (Lézard vert et Couleuvre d'Esculape) (0 %).

Les réservoirs occasionnels

Duman et Coll., en 1989, ont trouvé chez le chat des *Leishmania* dans des foyers de leishmaniose canine. De plus des travaux expérimentaux ont démontré qu'une réponse sérologique significative du chat au parasite inoculé par voie intraveineuse existe, sans que l'animal présente de signes cliniques.

Quelques races de rongeurs ont été trouvées infestés par *Leishmania infantum*, notamment le rat.

Il semblerait que les cas concernant les animaux trouvés occasionnellement infestés soient à mettre au compte d'hôtes accidentels dans le cycle de l'affection. Ces animaux ne constituent vraisemblablement en aucune manière des réservoirs sauvages, en comparaison du très grand nombre de Canidae contaminés dans les mêmes régions. En effet sur 252 rongeurs, capturés dans le sud de la France dans une zone où les cas humains et canins sont fréquents, aucun n'a été trouvé porteur de *Leishmania infantum*.

De plus, l'Homme peut également jouer le rôle de réservoir vis-à-vis de ses congénères.

Toutefois le cycle épidémiologique classique Chien - Phlébotome - Homme, caractéristique des foyers secondaires, n'exprime pas toujours l'intégralité des faits, réservoirs domestiques et sauvages peuvent coexister.

EPIDEMIOLOGIE

Dans le monde

Selon l'Organisation mondiale pour la santé (OMS), pour laquelle la leishmaniose est une préoccupation majeure au même titre que le sida, le paludisme et la tuberculose, 14 millions de personnes dans le monde sont atteintes par cette maladie. Les pays pauvres sont les plus touchés.

Les différents types de leishmanioses sont retrouvés dans les régions tropicales et sub-tropicales du globe. On distingue deux grandes situations géographiques, l'Ancien Monde (sud de l'Europe), Afrique, Proche-Orient et Asie, et le Nouveau Monde (Amérique du Nord, du Sud et Centrale). Les différentes manifestations cliniques sont observées dans les deux mondes mais elles ne sont pas causées par les mêmes espèces de *Leishmania*, propagées par

différents genres et espèces de phlébotomes selon la région. Par contre, le sous-genre *Viannia* ne se retrouve qu'en Amérique.

Les pays les plus durement touchés par la leishmaniose viscérale sont le Bangladesh, le Brésil, l'Inde, le Népal et le Soudan : on y retrouve 90 % des nouveaux cas annuels. Quant à la leishmaniose cutanée 90 % des nouveaux cas se situent en Afghanistan, au Brésil, en Iran, au Pérou, en Arabie Saoudite et en Syrie.

On estimait à 12 millions le nombre de personnes infectées par les différentes espèces de *Leishmania* en 2000 avec une incidence annuelle mondiale d'environ 600 000 cas déclarés dans 88 pays. Mais il faut signaler l'importance du portage asymptomatique. [1] [8] [32] [33] [61]

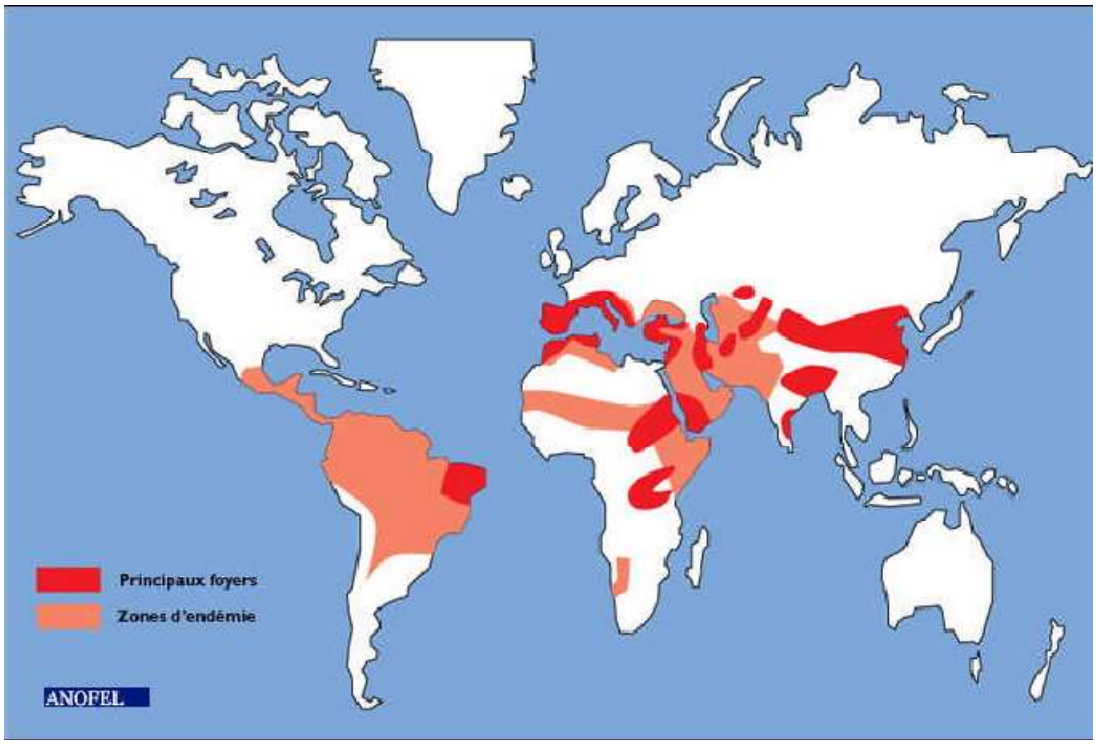


Figure 19 [3]

Répartition géographique mondiale des Leishmani.

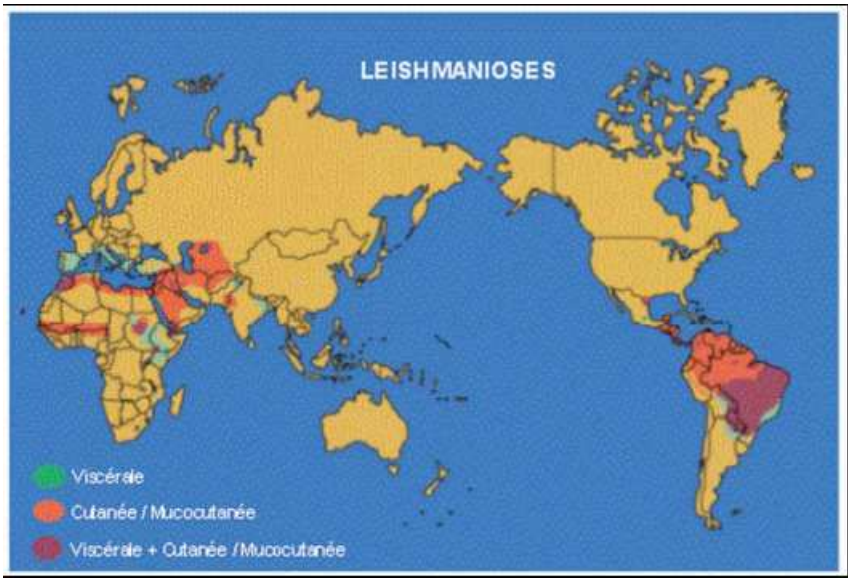


Figure 20 [47]

Répartition mondiale des zones d'endémies des leishmanioses cutanées, mucocutanées et viscérales.

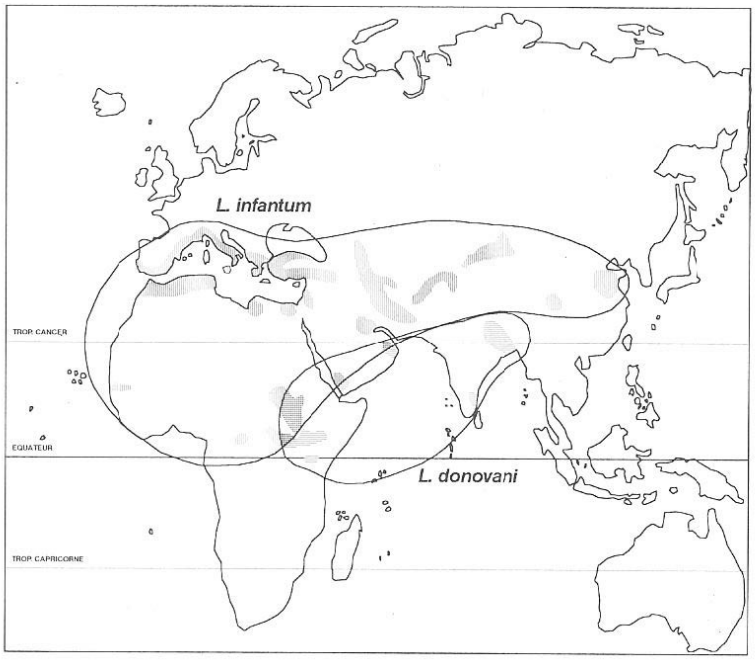


Figure 21 [28]

Distribution dans l'Ancien Monde de la leishmaniose viscérale (zones grisées).

Les limites se rapportent aux aires d'extension des taxons Leishmania infantum et Leishmania donovani, qui se superposent en partie.

La zone méditerranéenne

Le bassin méditerranéen est une entité biologique. En fait, les grands échanges thermiques entre les masses maritimes et terrestres ont fait de cette région une zone bio-climatique particulière. Dans différents endroits de cette zone, le vecteur de la leishmaniose semble avoir évolué pour occuper des endroits humides, sub-humides et semi-arides où les foyers de la leishmaniose canine se sont développés progressivement. Les canidés sauvages peuvent être infectés mais

les chiens domestiques occupent une place de choix en tant qu'hôte amplificateur domestique dans les cycles de la leishmaniose sur le pourtour méditerranéen et partout ailleurs. [36] [24]

Algérie

La leishmaniose canine a été signalée pour la première fois en Algérie en 1910 et le premier cas humain de leishmaniose viscérale y fut découvert en 1911.
En 1910, 7,2 % des chiens étaient atteints cliniquement de signes leishmaniens. Ensuite la fréquence de chiens malades augmente progressivement (1 % en 1911 et 1912 ; 2,6 % en 1913 ; 4,8 % en 1948 et 10,5 % en 1949 et 1950).
Bien que la leishmaniose canine soit présente à travers tout le pays, les proportions de chiens infectés varient selon les conditions bio-climatiques. L'infection est très rare dans le grand Sud ; les foyers les plus actifs se trouvent au nord, dans les montagnes de Petite et Grande Kabylie. En 1987, une fréquence séropositive "record" de 37 % fut atteinte sur 120 chiens de la commune de Azazga en Grande Kabilie. En 1995, la séroprévalence de la leishmaniose canine est de 36,5 %. Les zymodèmes MON -1, MON -34 et MON -77 de *Leishmania infantum* s'avèrent être les plus fréquents.

Chypre

La leishmaniose viscérale humaine, anciennement trouvée sur les régions côtières de Chypre, n'a pas été signalée pendant plusieurs années. En 1990, des cas sporadiques de leishmaniose cutanée apparurent dans les montagnes de Kyrenia ; l'agent étiologique était *Leishmania infantum.*
Deux études sur des chiens sont faites dans le sud de Chypre en 1996. Pour la première fois, des sérums provenant de 601 chiens sont examinés et 1,7 % s'avèrent positifs. Pour la seconde étude, faite à un endroit différent, la fréquence des sérums positifs est de 10 %. Le diagnostic de la leishmaniose fut posé à partir de culture et/ou PCR de prélèvements de ganglions lymphatiques provenant de 64 % de chiens ayant un sérum positif. Des parasites isolés de 10 chiens (6 symptomatiques et 4 asymptomatiques) ont été identifiés comme étant *Leishmania infantum* avec comme zymodème : MON -1.

Egypte

Le premier cas humain de leishmaniose viscérale en Egypte est décrit en 1904. En 1982, une

poussée de leishmaniose canine apparut à El agamy situé à 14 kms à l'ouest d'Alexandrie. En 1989, 79 chiens sont suivis dans ce foyer et une fréquence de 7 % est retrouvée.
Le zymodème MON -98 de *Leishmania infantum* est identifié chez le chien et chez l'Homme.

Grèce

Vers 1934, la leishmaniose viscérale était bien connue en Grèce. Pendant les années 40, une moyenne de 160 cas de kala-azar était enregistrée chaque année. L'infection est sporadique dans les régions d'Athènes, Atiichy, Corfou et de la Crète ; 33 cas humains de leishmaniose viscérale furent déclarés en 1920 ; 29 en 1991 ; 19 en 1992 et 51 en 1993.
Depuis 1911, il a été montré une évolution en dents de scie de la maladie canine jusqu'en 1994 avec des pics de fortes fréquences de chiens positifs en 1911 : 40 % de chiens positifs à Athènes et le port du Pirée ; en 1994 : 537 cas de leishmaniose canine enregistrés en Grèce.
Le zymodème MON -1 de *Leishmania infantum* est le zymodème présent en Grèce.

Israël

La leishmaniose viscérale fut étudiée par Adler (1964) qui trouva que les cas humains étaient sporadiques en Israël avec une endémie stable dans les zones de Basse Galilée.
Dans les années 30, Adler démontra que 20 % des chiens étaient positifs dans cette région. D'avril à juillet 1985, Jaffe et coll. (1988) trouvèrent une fréquence de 6,6 % sur 75 chiens domestiques autour de la Galilée. En 1996-1998, 43 chiens domestiques provenant de 12 localités du centre d'Israël furent diagnostiqués avec la leishmaniose canine. Sur 213 chiens dans le centre d'Israël, 35 étaient séropositifs, y compris 17 d'entre eux qui avaient subi une séroconversion pendant les trois années de surveillance.
Récemment, Baneth et Jaffe (1999) examinèrent la situation actuelle de la leishmaniose canine en Israël et montrèrent comment la maladie s'est propagée pendant les dernières années, comblant le fossé entre un nouveau foyer central et l'ancien du nord.

Italie

En Italie, le premier cas humain de leishmaniose viscérale fut décrit en 1903. La maladie humaine est principalement présente sur la côte Tyrrhénienne et en Sicile.
En 1910, Basile trouva 40 % de chiens positifs à Rome. Dans les années 80, les fréquences séropositives varient énormément d'un lieu à l'autre (3 % à Baccinello et Tuscany, 24 % à

Monte Argentario, 2,5 % à Matino et Pullia, 1,6 % à Emilia-Romagna ; entre 19,1 % et 22,5 % sur l'île d'Elbe).

La Sicile est un foyer bien connu de la leishmaniose canine. En 1910 et 1911, Pulvirenti trouva 1,1 % de chiens positifs et en 1912, Panto en trouva 2,4 %. Basile rend compte en 1910 de 81,8 % de prélèvements de moelle osseuse positifs sur des chiens de Bordonaro et Màsine. Adler et Theodor (1932) déclarent 1,3 % de chiens positifs en Sicile et, un peu plus tard, Previtera (1933) en déclara 6 %. De 1959 à 1971, Catarsini (1971) enregistra 221 cas de leishmaniose canine à Messine et ses environs. Dans les années 90, le zymodème MON -1 de *Leishmania infantum* fut identifié sur des chiens et des renards.

Liban

Le premier cas de leishmaniose viscérale humaine est décrit par Hitti en 1926 et cinq ans après, le premier cas de leishmaniose canine fut annoncé à Beyrouth. En 1960, 2 % de 150 échantillons de sérum canin provenant de plusieurs régions étaient positifs.

Malte

Le premier cas de leishmaniose viscérale humaine a été découvert en 1909 et le premier cas de leishmaniose canine un an plus tard. Sur 39 chiens, 7,7 % avaient des prélèvements de rate positifs en 1910 et 12 % en 1911. En 1914, Wenyon trouva 13 % de chiens positifs. En 1931 et 1932, Adler et Théodor rapportèrent une fréquence de 10 % sur 100 chiens. En 1989, sur l'île de Gozo, une fréquence séropositive de 17 % fut annoncée.

Maroc

Le premier cas de leishmaniose viscérale humaine a été trouvé à Meknès. Plus tard, la répartition de la maladie était diffuse.

Plusieurs études épidémiologiques ont été suivies pour vérifier le rôle des chiens dans le cycle épidémiologique de la leishmaniose au Maroc. Sur le flanc sud du Haut-Atlas, dans une région semi-aride et dans les contreforts de l'Atlas (région aride), les fréquences de la leishmaniose canine étaient respectivement de 23 % et de 4,2 %.

Plusieurs parasites provenant de ganglions lymphatiques de chiens furent identifiés comme des zymodèmes MON -1 de *Leishmania infantum*.

Sur le flanc nord du Haut-Atlas, à Tarment, la fréquence de sérum positif était de 8,8 %. Le zymodème MON -1 de *Leishmania infantum* a été isolé à la fois d'échantillons de viscères et de

peaux de chiens. Dans la même ville, plusieurs parasites provenant de peaux de chiens furent identifiés comme des zymodèmes MON -102 de *Leishmania tropica* et à Smimou, dans la province d'Essaouira, le zymodème MON - 113 de *Leishmania tropica* fut isolé sur des lésions cutanées canines.

Dans le nord du Maroc, près de Taza, à la jonction du Rif et de la chaîne du Moyen Atlas, des parasites isolés de ganglions lymphatiques de chiens furent également identifiés comme étant *Leishmania tropica*.

Portugal

Alvares a signalé en 1910 le premier cas de leishmaniose viscérale à Lisbonne. En 1913, on enregistrait un cas positif sur 83 chiens.

Dans les années 90, l'infection est sporadique à travers tout le pays et il y a trois foyers très actifs : au nord du pays où 80 % des cas sont signalés (fréquence canine de 9,4 % à 37,8 %) ; la région métropolitaine de Lisbonne (fréquence canine de 3,8 % à 10,9 %) ; au sud du pays (fréquence canine de 9,5 %).

MON -1 est le seul zymodème de *Leishmania infantum* isolé sur des chiens et des renards portugais.

Espagne

Le premier cas humain de leishmaniose viscérale fut signalé dans le delta de l'Ebre en 1912.

L'année suivante, dans la même zone, le premier cas de leishmaniose canine fut noté.

La fréquence séropositive de la leishmaniose canine va de 1,6 % en Galicie à 18 % en Catalogne. La leishmaniose canine est plus fréquente sur la côte est, dans les provinces bordant la Méditerranée, particulièrement en Murcie (3,7 %) où trois renards positifs furent enregistrés et en Alicante.

Dans les îles Baléares la fréquence de séropositivité chez les chiens est aux alentours de 25 % mais à Minorque, la leishmaniose canine semble absente.

Les zymodèmes MON -1, MON -11, MON -77 de *Leishmania infantum* ont été retrouvés sur des chiens espagnols.

Syrie

Le premier cas de leishmaniose viscérale humaine fut décrit par Lépine (1926). Plus tard, en

1946, deux nouveaux cas de leishmaniose viscérale furent décelés sur des enfants à Kassab, au nord de la Syrie.
Un an plus tard, la présence de leishmanies dans la peau, le foie et la rate de 5 chiens sur un groupe de 24 fut signalée à Kassab.
Dans les années 90, les zymodèmes MON -1 de *Leishmania infantum* et MON -76 de *Leishmania tropica* furent identifiés.

Tunisie

Le premier cas de leishmaniose viscérale humaine fut noté en 1904. En 1908, le premier cas de leishmaniose canine sur un chien issu d'un groupe de 40 fut découvert à Tunis. La même année, une fréquence de 1,8 % fut enregistrée sur des chiens, également à Tunis. Une fréquence de 1,8 % fut rapportée en 1911 puis de 1,6 % en 1913 ; de 5,5 % en 1914 et de 3,9 % en 1968.
Dans une étude faite de juillet 1968 à octobre 1970 dans 46 localités de Tunisie, 1219 sérums canins furent examinés. Les plus grandes fréquences de séropositivité se situaient dans les zones semi-arides (6,2 %) et sub-humides (3,7 %). Dans les zones arides, la fréquence était faible (1,6 %). Le zymodème MON -1 de *Leishmania infantum* est identifié sur des chiens tunisiens en 1981.

Turquie

La leishmaniose viscérale humaine a été constatée de façon sporadique dans l'ouest de la Turquie. Il y eut 45 cas de 1954 à 1964 et 74 cas de 1974 à 1980. La leishmaniose canine semble être plus fréquente sur le littoral des mers Noire et Egée qu'à l'intérieur du pays.
En 1998, une étude démontra une variation importante de la séropositivité allant de 3,6 % à 19 % dans six villages situés près de Manisa, Alasehir, à l'ouest d'Izmir et près de Karabük dans la zone côtière de la mer Noire.

En France

Le premier cas de leishmaniose canine fut signalé à Marseille en 1913 par Pringault à partir de 50 chiens. L'année suivante, le même auteur trouva 2,5 % et 1,6 % de chiens positifs.
A Nice, Falchetti et Faure Brac (1932) prouvèrent la présence de parasites sur 13 % de chiens asymptomatiques et sur 43 % de chiens symptomatiques d'un élevage.

Dans la région marseillaise, 240 cas de leishmaniose canine furent enregistrés en 1976 et 2278 en 1986. Dans les alpes maritimes, un à cinq nouveaux cas sont découverts par semaine par les vétérinaires.

Les études de Dereure en 1993 ont montré la progression de la fréquence de la leishmaniose dans les zones où l'infection était déjà connue mais aussi la présence de nouveaux foyers dans les zones de banlieues rurales où la leishmaniose canine était encore absente il y a 20 ans (séropositivité de 20 % et 10 % dans deux villages près de Montpellier).
La leishmaniose canine est une endémie dans le sud de la France : dans une région en forme de triangle à la pointe duquel se trouvent au nord les départements de la Drôme et de l'Ardèche ; la côte méditerranéenne allant de l'Espagne à l'Italie formant la base.

Dans le Languedoc, la fréquence de la leishmaniose canine est plus forte (6 à 10 %) à des altitudes allant de 220 à 800 m, correspondant à des étages de végétation où se mélangent les chênes.

Dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur, la leishmaniose canine se caractérise par une forte fréquence sur les zones péri-urbaines.
Les zymodèmes MON -1 et MON -108 de *Leishmania infantum* ont été tous deux observés en France (zymodème MON -1 étant le plus commun).
Parmi la vingtaine de souches de leishmanies recensées dans le monde, c'est *Leishmania infantum* qui prévaut en France.

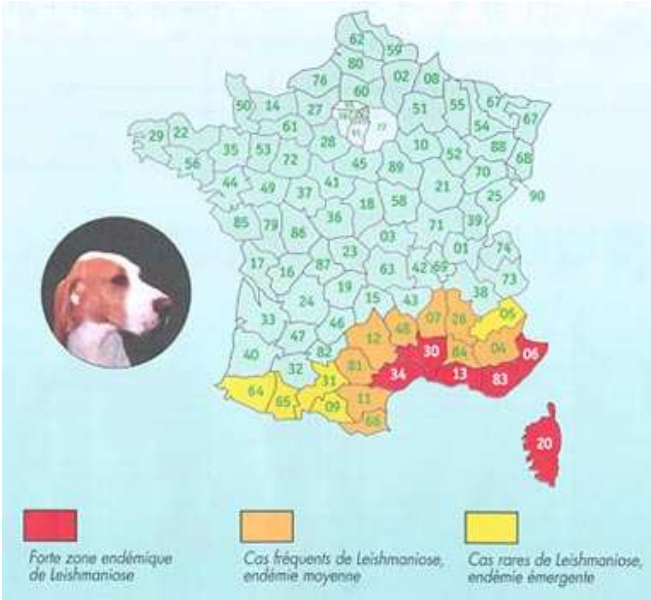


Figure 22
Fréquence des cas de leishmaniose en France.

La majorité des parasites responsables de la leishmaniose canine dans le bassin méditerranéen appartient à l'espèce *Leishmania infantum* dont MON -1 est le zymodème qui a été relevé le plus fréquemment dans 10/16 pays pris en considération.
Toutefois huit autres zymodèmes de *Leishmania infantum* ont été identifiés chez des chiens de la zone méditerranéenne.
Comme les cas manifestes de la leishmaniose canine sont plus nombreux que les cas de leishmaniose viscérale humaine, les chiens sont considérés comme étant le principal réservoir de leishmaniose viscérale humaine. [36]

Evolution de la maladie et changements climatiques

Le réchauffement de l'atmosphère a plusieurs conséquences. Directement il entraîne des vagues de chaleur plus fortes et donc une diminution du rafraîchissement nocturne. Le réchauffement de la planète amplifie la fréquence et l'intensité des inondations et des sécheresses en renforçant les amplitudes de variations du climat soutenues par l'amplification, lors d'augmentations de température, des phénomènes liés au cycle de l'eau. L'augmentation des inondations et des sécheresses favorise la reproduction des insectes. La prolifération est encore augmentée quand les changements de climat ou les modifications de l'habitat réduisent les populations de prédateurs des vecteurs. Tout ceci induit l'émergence, la réapparition et la diffusion des maladies infectieuses qui une fois établies sont difficiles à éradiquer. En effet, à l'intérieur de la gamme de température où ils survivent, les insectes vecteurs prolifèrent plus vite et piquent plus dans un air plus chaud. Parallèlement, un accroissement de la température augmente la vitesse à laquelle les éléments pathogènes parviennent à maturité et se multiplient dans l'animal, ce qui augmente les chances de transmission de l'infection, étant donnée la courte durée de vie des vecteurs. D'autre part, si toutes les régions se réchauffent, alors les vecteurs envahiront des territoires qui leur étaient jusque là interdits, transportant la maladie avec eux. En outre, des nuits plus chaudes et des températures plus élevées ont pour conséquences, dans les zones que les vecteurs occupent déjà, plus de risques de transmission pendant des périodes plus longues.

Le problème du contrôle d'une maladie endémique se pose surtout dans les pays en voie de développement, où les moyens de prévention et de traitement sont limités.

Le commerce et les voyages internationaux aidant, un insecte vecteur voyageur ou un passager transportant les parasites suffit pour déclencher une épidémie. Une maladie infectieuse qui apparaît dans une partie du monde peut alors se propager sur des continents éloignés si l'agent pathogène y trouve un environnement hospitalier.
D'autres facteurs entrent également en ligne de compte, comme un déséquilibre de l'environnement favorisant la prolifération des vecteurs, une diminution des programmes d'éradication et une résistance accrue aux médicaments et pesticides.
De plus on a remarqué que l'incidence des maladies transmises par un vecteur s'élève dans les zones touchées par les inondations et les sécheresses.

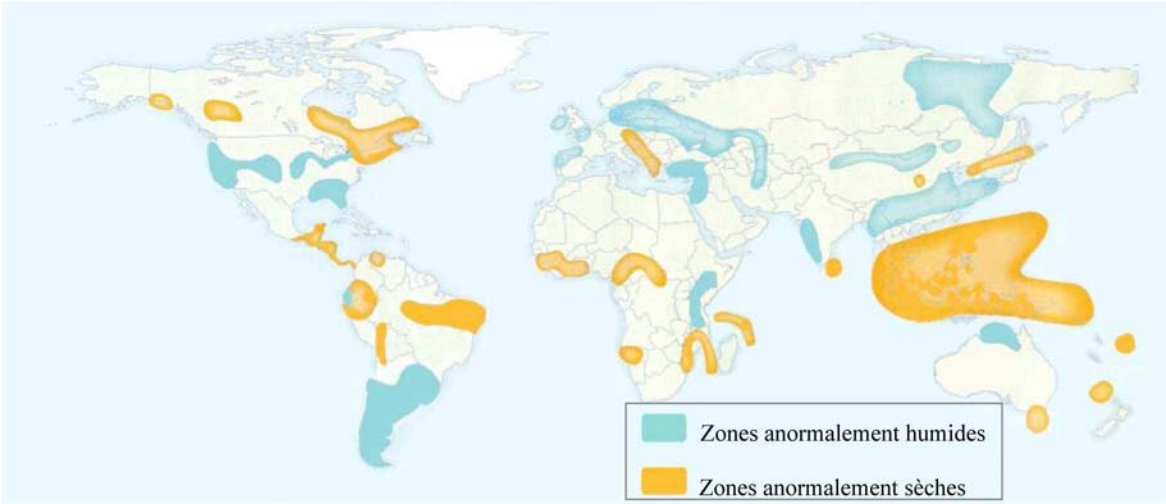


Figure 23 [38]
Conditions climatiques extrêmes favorables aux épidémies.

Une réunion regroupant le Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat (GIEC) a montré que le réchauffement climatique est un sujet majeur pour les années à venir.
Plusieurs facteurs entrent en compte :
- L'abondance des vecteurs : les phlébotomes sont particulièrement actifs dans des zones protégées du vent, au crépuscule, près du sol.
- Le mode de vie des chiens : la maladie est beaucoup plus fréquente chez les chiens vivant à l'extérieur (par exemple les chiens de garde).

- L’état du pelage : les vecteurs attaquent les zones peu protégées par les poils (chanfrein, conques auriculaires) donc les poils ne constituent pas une protection.
- La saison : les phlébotomes adultes sont actifs l’été et la nuit.
- L’environnement : pendant la journée, les phlébotomes se réfugient dans les interstices des vieux murs, du sol et dans les terriers. La larve a besoin d’humus, de déchets organiques et d’eau. Sol humide des caves, tas d’ordures constituent les gîtes larvaires les plus fréquents. [20]

PATHOGENIE CHEZ LE CHIEN

Manifestations cliniques

Il est classique de distinguer deux formes évolutives : aiguë et chronique.
Toutefois, il est vraisemblable que la plupart des formes chroniques débutent par un épisode aigu et que certaines formes aiguës ne deviennent jamais chroniques.
De plus nous savons que l’évolution des formes chroniques est souvent émaillée de poussées de fièvre, d’anémie et d’inappétence.
L'incubation de la leishmaniose est longue, de l'ordre de plusieurs mois à plusieurs années.

Ceci entraîne deux conséquences :
- Tout d'abord pour le clinicien : un séjour, même bref et ancien, en zone d'endémie, peut être à l'origine de l'infestation de l'animal ; encore faut-il poser la question au propriétaire.
- Ensuite pour l'Homme de laboratoire pour lequel cette incubation constitue un handicap important à l'étude de la maladie expérimentale chez le chien ; il est difficile pour des raisons économiques de garder, pendant douze à dix-huit mois, des animaux inoculés.

Symptômes

Général	**Viscéral**	**Cutanéo-muqueux**	
		Lésions cutanées	**Lésions muqueuses**
Fièvre Amaigrissement Anémie	Hépato-splénomégalie Polyadénopathie Signes nerveux (troubles de la sensibilité)	Dépilation Dermite furfuracée Epaississement de la peau Erythème Ulcérations Hypertrophie des ongles (onychogriffose)	Erosions et ulcérations de la cavité buccale Ulcération de la muqueuse nasale (épistaxis) Lésions conjonctivales Kératine

Tableau 3

Symptômes généraux, viscéraux et cutanéo-muqueux de la leishmaniose canine.

Il est possible d'observer, dans une majorité de cas, une lésion cutanée ressemblant à celle de la leishmaniose cutanée humaine, assez homogène dans son expression et appelée chancre d'inoculation.

Ce chancre siège souvent au niveau du chanfrein ou de l'oreille comme le montrent les figures 24 et 25.

Figure 24 [29]

Chancre d'inoculation du chanfrein.

Figure 25 [29]

Chancre d'inoculation, face interne de l'oreille.

Deux symptômes sont fréquents et caractéristiques de la leishmaniose et peuvent constituer le motif de consultation :

✳ L'abattement : le chien est "fatigué", récupère difficilement après un week-end de chasse par exemple, refuse le jeu ou l'exercice ; cet abattement est très fréquent pour ne pas dire systématique ; il s'aggrave au cours de la maladie pour aboutir à une véritable prostration.

✳ L'amaigrissement : le chien "maigrit", l'amyotrophie intéresse en particulier les muscles des fosses temporales (crotaphytes) qui deviennent creuses, concaves, conférant ainsi à l'animal "une tête de vieux chien" ; cette fonte musculaire intéresse progressivement toutes les masses musculaires de l'animal et s'accentue au cours de la maladie : l'évolution aboutit à un véritable état cachectique. [15] [17] [31] [36] [53] [77]

Figure 26 [29]
Dépilation et cachexie chez un chien en phase terminale.

Figure 27 [29]
Emaciation des muscles faciaux.

Manifestations cutanéo-muqueuses

Les symptômes cutanéo-muqueux sont parmi les plus importants à retenir car ils sont très fréquemment rencontrés et relativement caractéristiques de la leishmaniose : ils intéressent la peau et les différents phanères.

Figure 28 [36]
Onychogriffose.

Voici ce que l'on peut observer principalement :

- aires de calvescence
- lésions cutanées
- ulcères cutanés
- épitaxis
- ongles de « fakir » : allongement des ongles

Certains chiens présentent un allongement des ongles qui se recourbent à leurs extrémités et peuvent gêner la marche. Cette croissance anormale des ongles s'accompagne parfois d'œdème et d'infiltration interdigitée.

Figure 29
Croissance anormale des ongles : œdème et infiltration interdigitée.

* on observe en diverses régions du corps (essentiellement la tête, les zones de peau reposant sur des saillies osseuses mais potentiellement tout le corps) des aires de calvescence à contour non géométrique, s'agrandissant progressivement et évoluant vers l'alopécie.

Figures 30 et 31 [36]
Dépilation en lunettes.

* les lésions cutanées sont la conséquence de troubles de la kératogénèse ; elles consistent en une hyperkératose : épaississement de la couche cornée de l'épiderme à l'origine de lésions pseudocroûteuses du chanfrein, des coussinets et de la truffe qui paraît fendillée et craquelée.
Il y est associé une parakératose, c'est à dire un squamosis à l'origine de squames abondantes et de grandes dimensions, brillantes, amiantacées, psoriasiformes : c'est le furfur leishmanien ; ces squames peuvent intéresser tout le corps ou une région particulière comme la région dorsolombaire ou la pointe du pavillon auriculaire et constituent souvent un motif de consultation.

Figure 32 [69]
Squames au niveau de la pointe du pavillon auriculaire.

* des ulcères cutanés apparaissent en tout endroit du corps mais fréquemment dans les zones de saillies osseuses (vraisemblablement en relation avec les microtraumatismes infligés lorsque l'animal se couche), les régions interdigitées et la truffe.

Figure 33 [69]
Ulcères cutanés au niveau de la truffe.

Ces ulcères sont torpides, saignent facilement, ne cicatrisent pas et laissent ainsi une lymphe souillée de leishmanies : ceci est bien entendu utile pour le diagnostic direct ; mais ces ulcères peuvent être à l'origine d'une transmission directe et sont donc à prendre en considération lors de la décision thérapeutique.
Ces lésions cutanées ne sont pas prurigineuses : aucune lésion de grattage n'est observée, l'animal au cours de sa consultation ne se lèche pas, ni ne se mordille.

* le processus pathogénique concourant à la formation des ulcères cutanés est à l'origine des même lésions au niveau des muqueuses (buccale, digestive...) et surtout de la muqueuse pituitaire d' où une épistaxis fréquente.

Manifestations oculaires

On peut observer :
- une conjonctivite bilatérale

- une hyperhémie (rougeur intense, vasodilatation)
- un chemosis (la conjonctive peut faire saillie sous la paupière)
- une conjonctivite granulomateuse assez caractéristique
- des néoformations arrondies siégeant au bord libre des paupières ou de la membrane nictitante appelées "leishmaniomes" et disparaissant assez vite sans laisser de séquelles
- une kératite : l'inflammation de la cornée est rarement isolée
- une kérato-uvéite

Manifestations viscérales (autres que rénales)

Ces manifestations sont la conséquence directe de l'atteinte du système lymphomacrophagique.
Il y a atteinte des nœuds lymphatiques qui sont hypertrophiés, indolores, mobiles et non adhérents : cette adénomégalie intéresse en particulier les nœuds lymphatiques superficiels (préscapulaires, poplités) et est donc décelable lors de la consultation.
Une splénomégalie peut être observée chez le chien mais ce symptôme est inconstant et souvent modéré.

✳ Le tissu conjonctif sous-cutané : formation de granulomes volumineux, indolores, palpables, déformant l'aspect de l'animal et conduisant à l'exérèse chirurgicale.
Ces nodules peuvent augmenter rapidement de volume et de façon simultanée à une hyperthermie puis régresser.

✳ Le tube digestif : une entérite diarrhéique plus ou moins hémorragique, ainsi qu'une colite chronique (augmentation notable de la défécation, présence de mucus et de sang) peuvent être observées.

✳ Signes nerveux : ils apparaissent en fin d'évolution et se traduisent par des tremblements et des troubles moteurs allant de la simple boiterie à la paralysie. [39]

Manifestations rénales

❖ Aspects cliniques.

L'insuffisance rénale n'est ni une forme rare, ni une complication terminale de la

leishmaniose ; elle constitue un des symptômes d'appel permettant d'établir le diagnostic parasitaire.

L'insuffisance rénale est aiguë et isolée.

Elle s'installe en 2 ou 3 jours, parfois 24 heures seulement, chez des animaux jeunes rendant toute cause sénile improbable. Les signes avant-coureurs sont peu évocateurs : anorexie, intense prostration ; une conjonctivite et/ou une rhinite bilatérale purulentes viennent parfois compléter ce tableau.

Ces troubles digestifs, s'ils existent, sont représentés par quelques vomissements, rarement de la diarrhée. L'hyperthermie est toujours modérée.

En zone d'endémie ou après un séjour dans une telle zone, la leishmaniose sera intégrée dans le diagnostic différentiel de toute néphropathie aiguë.

Plusieurs examens sont réalisés :

On réalise un dosage urée-créatinine pour apprécier la fonction rénale. On recherche l'origine de l'insuffisance rénale en recherchant une protéinurie.

✳ Leishmaniose avec complications rénales :

La présence de leishmanies dans l'organisme d'un chien peut avoir une incidence sur la fonction rénale. Lorsque le diagnostic de leishmaniose est posé, il est nécessaire d'en vérifier l'intégrité. Dans les cas précoces, seule une protéinurie et une cylindrurie sont décelables. Cette surveillance sera régulièrement effectuée, l'atteinte rénale pouvant survenir plusieurs mois ou années après l'apparition des premiers symptômes.

✳ Insuffisance rénale iatrogène :

Contrairement à l'idée reçue, le glucantime® n'est pas lui-même néphrotoxique, néanmoins certains chiens présentent une intolérance au sel d'antimoine qui se traduit par une insuffisance rénale modérée, réversible dès l'arrêt des injections. Il convient d'insister sur le caractère exceptionnel d'une telle situation (2 cas sur 379 en 1987). Quoi qu'il en soit, la mise en oeuvre du traitement par glucantime® doit tenir compte de l'état de la fonction rénale du sujet leishmanien.

- Aspects anatomopathologiques sur biopsie rénale.

Les manifestations rénales ont été mises en évidence par coloration et après observation au microscope à fluorescence de coupes après traitement par des immuns-sérums anti-IgA, anti IgG, anti IgM, anti fraction C3 et anti fraction Cl q du complément. Dans 90 % des cas, on met en évidence une glomérulite.

Au sein de ces 90 % :

40 % des lésions glomérulaires leishmaniennes sont des glomérulonéphrites aiguës
50 % des cas sont représentés par des glomérulonéphrites extra membraneuses
10 % des cas ne font état que d'une hyalinose discrète

La leishmaniose est une maladie systémique et chronique. Le parasite affecte le système des phagocytes mononucléés présent dans tous les organes.
Le chien leishmanien est souvent présenté à la consultation pour des lésions cutanées non prurigineuses associées à un amaigrissement, un abattement et une polyadénomégalie.
Le tableau clinique est d'évolution lente. Il n'est pas nécessaire d'observer la totalité des symptômes décrits pour évoquer une leishmaniose.

Parler de diagnostic, c'est différentier deux problématiques :
- la problématique du clinicien. Face à un animal malade il doit établir un diagnostic précis et doit déterminer si les symptômes sont imputables à l'action délétère du parasite. Il faut également qu'il puisse détecter précocement les chiens infectés et ceux qui vont développer la maladie.
- la problématique de l'épidémiologiste. Il dépiste les chiens hébergeant des parasites, ce qui inclut les malades (porteurs symptomatiques) et les chiens sains (porteurs asymptomatiques).

Les techniques de diagnostic doivent avoir deux qualités :
- sensibles : le technicien ne doit pas passer à côté d'un cas de leishmaniose
- spécifiques : un chien non atteint de leishmaniose ne doit pas avoir un test positif
[41] [65] [66]

Diagnostic de présomption

Tout chien vivant ou ayant vécu, même de façon brève en zone d'endémie et même si ce séjour a eu lieu plusieurs mois auparavant, doit être considéré comme suspect de leishmaniose même si le chien vit dans une zone à priori indemne.
Le diagnostic de leishmaniose doit être évoqué lors :
- d'amaigrissement associé ou non à un abattement
- d'adénomégalie
- de squamosis

- d'alopécie ou d'ulcères cutanés
- d'épistaxis
- d'atteintes oculaires [17]

Mise en évidence directe du parasite en microscopie optique

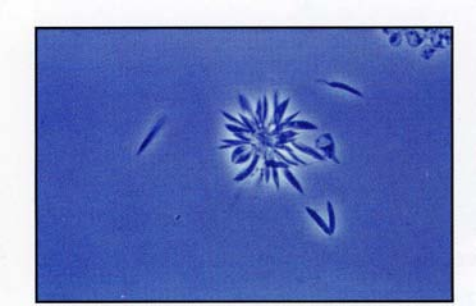


Figure 34 [36]

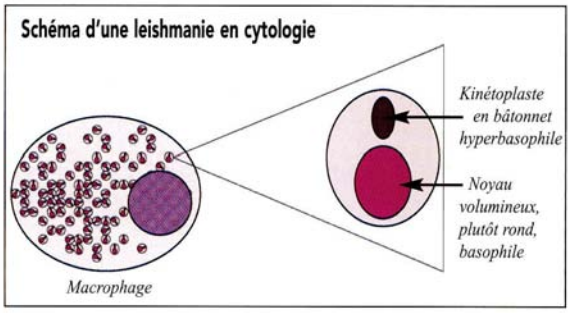
Le parasite. Forme promastigote dans le tube digestif de son hôte ou dans un milieu de culture NNN.

La mise en évidence des leishmanies se fera à partir de prélèvements effectués au sein des tissus ou des organes fortement parasités.

La mise en évidence directe des parasites est le diagnostic de choix en Médecine Humaine ; il reste en Médecine Vétérinaire un diagnostic essentiel et chaque fois que cela sera possible, il devra être entrepris. Cependant depuis l'existence d'un immuno-diagnostic de bonne qualité, ce diagnostic passe finalement au second plan par rapport à la sérologie. Il deviendra indispensable lors de sérologies négatives ou douteuses.

Il sera effectué sur :

- copeau cutané
- ponction ganglionnaire (attention en cas de leishmaniose grave en fin d'évolution = peu de parasites), ici souvent parasites extracellulaires (souffrance cellulaire lors du frottis).
- moelle osseuse : tissu le plus riche
- biopsies cutanées (non essentiel mais toujours possible)
- raclages conjonctivaux



Les prélèvements obtenus à partir de raclages conjonctivaux, de lésions cutanées (nodules, ponction à l'aiguille fine d'un nodule situé sur la langue…) permettent de mettre en évidence des parasites phagocytés par des cellules macrophagiques.

On recherchera des parasites sous deux formes (amastigote et promastigote)

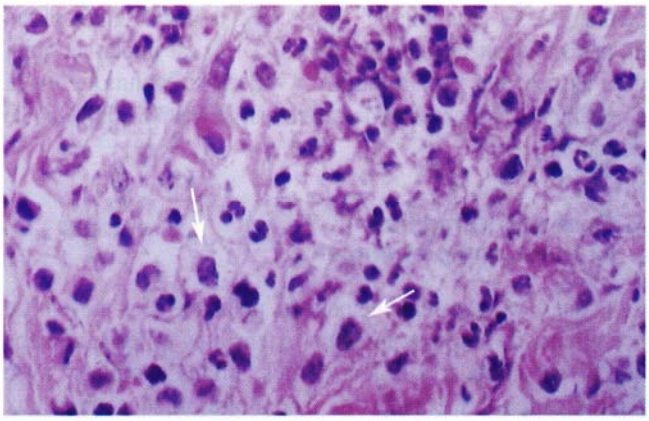


Figure 35

Les cellules macrophagiques (flèches) contiennent des éléments figurés (Leishmania sp.) HE X 400.

La forme amastigote possède un noyau de 2 à 6 microns et un kinétoplaste (= reste du flagelle), cette forme après coloration possède un cytoplasme bleu pâle et un kinétoplaste foncé.

Le problème est la nécessité d'une bonne coloration et d'une recherche minutieuse, patiente et méthodique (pauvreté cellulaire).

La coloration la plus souvent utilisée est la coloration de MAY GRÜNWALD-GIEMSA (MGG). La forme amastigote peut être également mise en évidence après avoir été inoculée à des animaux de laboratoire (hamster doré) qui sont ensuite euthanasiés : le foie et la rate de ces animaux étant ensuite traités de façon classique.

La forme promastigote apparaît après mise en culture au laboratoire sur milieu NNN (Novy-Mac NealNicolle) des divers prélèvements : les leishmanies sont visibles au bout d'une dizaine de jours.

Coloration

La lame est colorée de façon classique. Les colorations permettent de mettre en évidence les parasites.

Les cellules macrophagiques qui contiennent les parasites seront d'abord recherchées. Les parasites de forme ronde ou ovale et de taille allant de 1,5 à 3µm, se trouvent dans le

cytoplasme de ces cellules, sous la forme d'un noyau ovalaire associé à un kinétoplaste en forme de bâtonnet.

Technique de la coloration rapide :

- Sécher la lame sans la fixer, la poser sur le portoir ;
- couvrir la lame avec le colorant de May-Grunwald pendant 3 minutes ;
- couvrir la lame avec de l'eau du robinet pendant 3 minutes ;
- couvrir la lame avec le colorant de Giemsa rapide dilué à 10 % dans l'eau du robinet pendant 10 minutes.

Le parasite peut être mis en évidence sur les tissus ou organes susceptibles d'héberger des leishmanies : la moelle osseuse, les ganglions lymphatiques, la rate ou éventuellement, un nodule cutané.

Prélèvement de moelle osseuse :

Le trocart de Mallarmé est de moins en moins utilisé (si besoin on le remplacera par une ponction à aiguille fine) : son usage est trop douloureux pour le chien et la stérilisation est difficile. Il existe plusieurs sites de ponction, citons les premières vertèbres et la jonction chondro-costale. La moelle est aspirée doucement à l'aide d'une seringue. Après le prélèvement, une partie de la moelle est éventuellement gardée dans un tube EDTA pour la PCR et une goutte est déposée sur une lame pour l'examen cytologique. La ponction de moelle osseuse est un examen qui est riche d'enseignements. Sa sensibilité est par contre variable. [54]

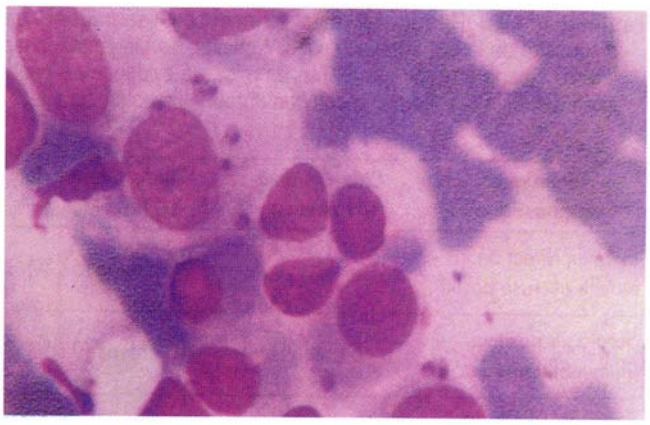


Figure 36

Mise en évidence dans la moelle osseuse et par ponction à l'aiguille fine des lésions nodulaires de la langue.

Rate

La rate est ponctionnée, cette ponction peut être réalisée sous guidage échographique, le plan de la sonde faisant un angle de 30° avec l'aiguille. On ponctionne lorsque l'aiguille apparaît dans la rate sur l'écran de l'échographie.

Les nœuds lymphatiques peuvent être aussi ponctionnés.

Cet examen est peu pratiqué car les cellules éclatent facilement lors de la ponction et de l'étalement.

Diagnostic différentiel

Pour chacun des symptômes évoqués ci-dessus, qu'ils soient réunis en totalité ou non, il convient d'envisager les autres maladies pouvant être à l'origine de ces ou de ce symptôme constaté en consultation.

L'amaigrissement et/ou l'abattement sont présents dans de nombreux processus pathologiques parfois fort différents : autres parasitoses, anémie, carence alimentaire, mal-assimilation, entéropathies, processus néoplasiques…

Les symptômes cutanés sont parfois malheureusement trop équivoques : la distinction doit être faite avec les autres dermatoses alopéciques, squamogènes et non prurigineuses du chien.

- Les teignes : aires alopéciques à contour généralement géométrique, extensives, contagieuses, non spécifiques et zoonotiques, non accompagnées d'atteinte de l'état général ; il convient toutefois de se méfier des dermatophyties associées à des états pathologiques immunodépresseurs, altérant l'état général du chien et se généralisant rapidement ; l'examen direct et la mise en culture permettent de lever le doute.
- La démodécie : aires de calvescence intéressant préférentiellement la face, l'encolure et la face proximale des membres antérieurs, associées à une séborrhée souvent importante, fréquemment observées chez des chiens jeunes ; la démodécie n'est pas contagieuse ni zoonotique, elle est en outre spécifique. Il est nécessaire toutefois de garder à l'esprit que la démodécie du chien adulte est associée à un état pathologique

général sous-jacent et que la pyodémodécie est l'origine d'un état général souvent mauvais ; les raclages cutanés ne mettant pas en évidence de nombreux stades immatures de *Demodex* donc ne permettent pas d'éliminer la démodécie.

- Les processus kératoséborrhéiques, les génodermatoses.
- Les maladies auto-immunes : les lésions peu ou non prurigineuses, croûteuses et ulcératives, intéressent très souvent la face symétrique, concernant la peau et les muqueuses et sont quelquefois associées à une dégradation importante de l'état général, à une polyadénomégalie et une glomérulonéphrite. Comme pour les précédentes hypothèses, la biopsie est souvent indispensable et permet à coup sûr de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse.
- On peut *à priori* écarter les dermatoses parasitaires comme la gale sarcoptique et la cheyletiellose fortement prurigineuses, contagieuses, zoonotiques.

L'épistaxis unilatérale ou non est un symptôme fréquemment observé chez le chien, en particulier dans des maladies parasitaires :

- la linguatulose, les ankylostomidoses (celles-ci étant associées à un mauvais état général, des adénomégalies) sont confirmables par la coprologie.
- l'aspergillose prouvée par la mise en évidence des filaments caractéristiques dans la biopsie de muqueuse pituitaire.
- l'ehrlichiose : fièvre, hémorragies et pétéchies, objectivable par une réaction sérologique (immunofluorescence).
- les tumeurs nasales (bénignes ou non) et les corps étrangers.

La polyadénomégalie est un signe rencontré lors de lupus érythémateux disséminé et lors de processus néoplasiques : la biopsie ganglionnaire associée à un étalement de la pulpe ganglionnaire et de sang permet de conclure. La polyadénomégalie est également présente dans l'ankylostomose (due à la migration des larves au travers du revêtement cutané) mais les troubles digestifs et l'anémie s'installent peu de temps après. Enfin, elle peut être observée dans le cas de pyodermites profondes ce qui soulève le problème de diagnostic différentiel.

Toute pathologie ne répondant pas au traitement conventionnel doit faire suspecter une leishmaniose. Cependant le diagnostic différentiel inclut les dermatoses (pyodermite, gale

sarcoptique, démodécie, teigne, maladies auto-immunes…) ainsi que les maladies débilitantes (cancers, Lupus Erythémateux Disséminé, ehrlichiose, hépatozoonose…). Ces pathologies peuvent également être concomitantes d'une leishmaniose. [34]

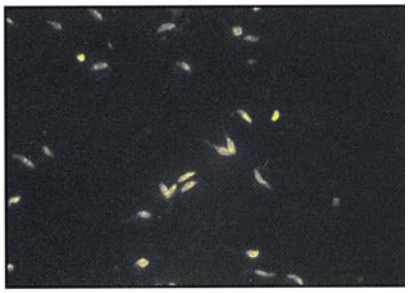
Diagnostic immunologique

Diverses techniques sont disponibles :

- la technique d'immunofluorescence indirecte (IFI)
- la technique ELISA
- les techniques d'immuno-migration rapide « doctor test ou savonnettes »

Ces tests détectent une classe d'anticorps circulants, principalement des IgG A, témoins de la réponse immunitaire. La leishmaniose dans sa phase d'état s'accompagnant essentiellement d'une réponse de type TH2, c'est-à-dire une immunité à médiation humorale, la recherche de ces anticorps est logiquement la technique de choix.

Immunofluorescence indirecte



Figures 37 et 38 [36] [53]
Immunofluorescence positive.

Cette technique est considérée comme celle de référence par l'Office des Epizooties. L'antigène est constitué par une suspension de formes promastigotes déposée en plots sur une lame. Les anticorps présents dans le sérum du chien malade vont se fixer sur ces formes promastigotes à différentes dilutions, ce qui permet d'établir le titre du sérum testé.

L'immunofluorescence indirecte utilise comme antigènes des formes promastigotes de culture (entretenues au laboratoire en milieu NNN et repiquées régulièrement) ou des lames toutes prêtes et commercialisées.

On utilise couramment l'immunofluorescence indirecte mettant en évidence des anticorps, pour

laquelle habituellement on retient le seuil de 1/80.

Au-delà de ce seuil, le prélèvement est considéré comme positif sans que l'on puisse établir une relation entre le taux d'anticorps et la gravité de la maladie : en revanche pour un animal donné, il est possible d'apprécier l'évolution de la maladie et de dépister une rechute, si la cinétique révélée par deux prélèvements espacés d'au moins 2 semaines montre une augmentation d'au moins deux dilutions (par exemple passage d'un taux de positivité au 1/320 au 1/1280).

En deçà de ce seuil de 1/80, il n'y a pas lieu de retenir l'hypothèse de leishmaniose, au moins dans un premier temps :

- soit l'animal souffre d'une autre maladie évocatrice de leishmaniose mais différente
- soit l'animal est véritablement leishmanien mais en début de maladie : les premiers symptômes font suspecter la leishmaniose de la part du clinicien, mais le taux d'anticorps spécifiques décelables est encore très faible : il est alors nécessaire de recourir à une deuxième sérologie effectuée par le même laboratoire et selon la même méthode, un mois plus tard pour apprécier la cinétique d'anticorps et confirmer ou infirmer la suspicion de leishmaniose.

La réaction d'immunofluorescence indirecte a été appliquée à divers prélèvements : peau, foie, rate, nœuds lymphatiques et moelle osseuse. Cette réaction plus compliquée présente l'avantage de pouvoir confirmer avec la même valeur que la sérologie une suspicion de leishmaniose sur des prélèvements de nature différente : biopsie cutanée par exemple parce que le clinicien suspectait davantage une maladie auto-immune ; l'anatomopathologiste qui observe des éléments intramacrophagiques suspects peut alors effectuer la réaction immunologique de confirmation.

Technique ELISA

Les antigènes sont fixés sur un support en polystyrène. Après incubation avec le sérum à tester, on révèle la réaction par une antiglobuline couplée avec des enzymes. L’ajout d’un substrat chromogène à cette enzyme révèle la réaction.

La réaction ELISA s’est développée car ses principaux intérêts sont d’être automatisable, de présenter une bonne sensibilité et une bonne spécificité (elle réagit cependant moins vite que l’IFI) et est semi-quantitative. Il n’y a pas de corrélation entre l’ELISA et l’IFI car ce ne sont pas les mêmes types d’Ac qui sont mis en évidence. L’ELISA nécessite un titre-seuil assez élevé afin d’éviter les faux positifs.

Cette réaction est surtout intéressante en épidémiologie et avec des laboratoires compétents maîtrisant la technique. [36] [55] [62]

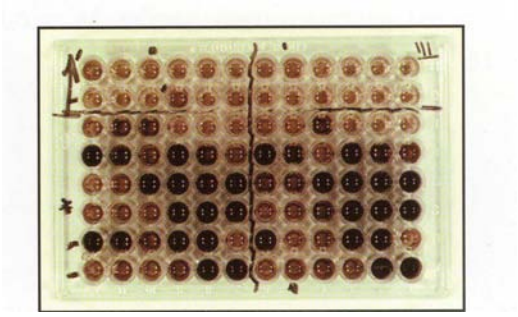


Figure 39 [36]

Test Elisa.

Test au latex (= immunoprécipitation)

Le support est constitué par des microbilles de polystyrène de 0.81 microns de diamètre. Le tampon utilisé pour les lavages, les dilutions de sérum et de latex, est un tampon glycocolle.

L'antigène utilisé est un extrait soluble de la souche de référence *L. infantum*, zymodème MON -1.

Pour réaliser le test, sont déposés sur une plaque de verre à fond noir, 10 microns de latex sensibilisé et un même volume de sérum à étudier, dilué au 1/15 dans le tampon glycocolle. Une réaction positive visible à l'œil nu se traduit par une agglutination des particules de latex après rotation lente de la lame dans un temps n'excédant pas cinq minutes. Un témoin positif et un témoin négatif sont systématiquement utilisés dans chacune des séries de réactions.

Le contrôle négatif présente un voile jaune homogène ; le contrôle positif une agglutination représentée par de petits grains jaunes et un fin liseré sur le bord réactionnel correspondant au dépôt d'agglutinats.

Si le résultat est positif, le sérum doit être repris selon une méthode quantitative, selon le même principe et à partir du prélèvement

Rq : comparaison IFI/test au latex : la sensibilité du test au latex est comparable et, dans certains cas, supérieure à celle de l'IFI. Les avantages sont la rapidité et la simplicité de réalisation. Elle présente toutefois l'inconvénient de n'être que qualitative. Une application intéressante pourrait être celle d'une utilisation "de terrain" pour le dépistage de la leishmaniose canine (cabinets vétérinaires, enquêtes épidémiologiques) ou humaine dans des dispensaires médicaux de pays en voie de développement.

Kits de diagnostic direct rapide

Pour la plupart des kits, l'examen se fait sur sérum, plasma ou sang total, la positivité correspond à l'apparition d'une bande ou d'un point en plus du témoin positif.
Les kits de diagnostic rapide font appel à une réaction entre les anticorps présents dans le sérum du malade et des peptides obtenus à partir du surnageant d'une culture de parasite.
Il est toujours difficile d'évaluer la sensibilité et la spécificité diagnostiques de ces tests. Les publications qui le font comparent les résultats obtenus avec ces tests et ceux avec la technique d'immunofluorescence. Or, cette dernière technique n'est pas considérée aujourd'hui comme la plus sensible.
L'IFI a une sensibilité d'environ 99 %, contre 97 % pour la technique Elisa et contre 100 % pour la PCR.
En ce qui concerne la spécificité : 95 % pour l'IFI, 100 % pour la technique Elisa et 100 % pour la PCR.

Il faudrait plutôt parler de corrélation à la technique d'IFI, et on peut dire que ces kits présentent une sensibilité inférieure à celle de l'IFI. Ce sont presque tous néanmoins des tests dont la spécificité est satisfaisante : si le résultat du test est positif, on peut considérer que l'animal est soit porteur asymptomatique, soit atteint de leishmaniose. Dans certains cas d'animaux « faiblement positifs » ou examinés en début de maladie, l'interprétation est délicate. Nous pensons que ces tests de diagnostic rapide doivent être utilisés chez tout chien présentant des signes cliniques évoquant la leishmaniose : ils permettent de gagner du temps. Un chien dont le résultat est positif et cliniquement atteint sera déclaré malade. Il faut être néanmoins prudent concernant leur utilisation dans le dépistage en routine de la maladie parce qu'ils sont d'une sensibilité médiocre, exclure la maladie sur la foi d'un résultat négatif conduit à des erreurs.

Il semblerait exister des chiens anergiques, ceci serait lié à un déficit immunitaire et se caractériserait par des lésions papulo-nodulaires infiltrées profuses, d'évolution chronique avec une prédilection pour l'atteinte nasale et les oreilles.

D'autres tests utilisant des antigènes recombinants seront peut être disponibles dans un futur proche. Un test actuellement en cours d'évaluation utilise un antigène recombinant, le K39. La présence d'anticorps contre cet antigène serait plus spécifique de la leishmaniose maladie et ferait la différence entre le portage asymptomatique et la leishmaniose maladie. Les tests utilisant l'antigène K39 seraient plus spécifiques de la maladie et discrimineraient les porteurs asymptomatiques chez l'homme. [6] [12] [53]

Limites des examens sérologiques

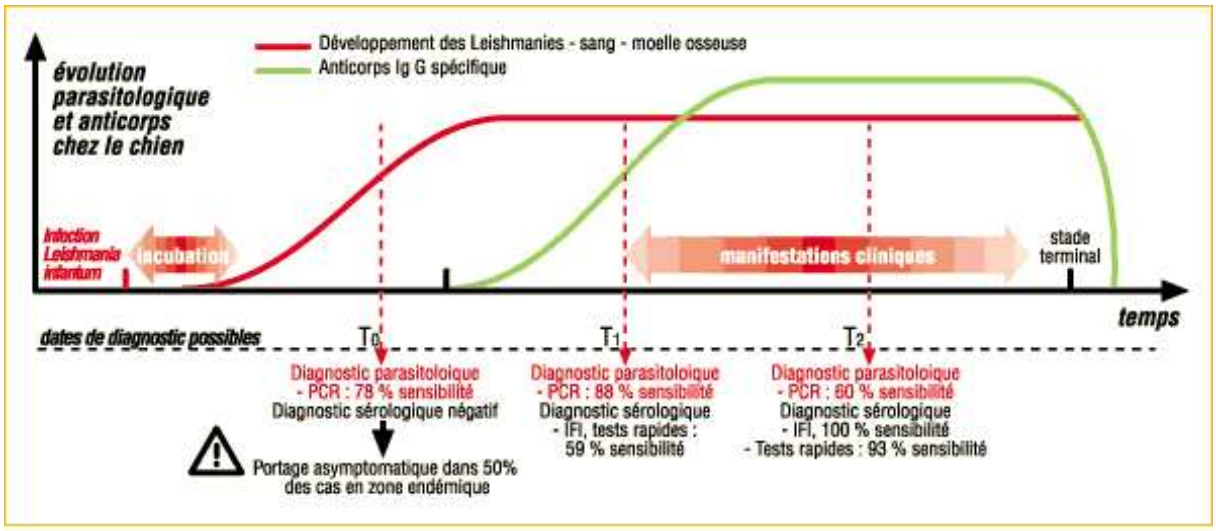


Figure 40

Etude de l'évolution parasitologique et des anticorps chez le chien en fonction du temps.

La sensibilité analytique de ces examens est satisfaisante : ils détectent correctement un faible taux d'anticorps circulants chez le malade. Leur spécificité analytique est aussi excellente car

il ne semble pas qu'ils détectent d'autres anticorps que ceux dirigés contre *Leishmania infantum*, autrement dit, il ne semble pas exister de réactions croisées.
Or il faut savoir que ce qui intéresse le vétérinaire, c'est le diagnostic de la maladie, et non savoir si le chien possède des anticorps circulants ou non. La sensibilité est estimée à 90 % et la spécificité diagnostique à 85 %. Cela signifie donc que 10 % des malades sont négatifs pour la sérologie et que 15 % d'animaux non malades sont positifs. Il existe donc des cas où le résultat est positif alors que l'animal n'est pas malade : ces faux positifs correspondent à des animaux effectivement porteurs d'anticorps mais non malades : c'est tout le problème des foyers déclarés sur la fois de la sérologie.
Il ne faut pas oublier que le laboratoire donne un résultat qui est interprété en fonction de la technique employée (performances, seuils de positivité) et du tableau clinique. C'est le Clinicien qui établit finalement le diagnostic.

Technique de Polymerase Chain Reaction (PCR)

Cette technique permet de rechercher la présence de génome de l'agent pathogène dans un prélèvement de peau, de nœud lymphatique, de moelle osseuse ou de sang. Pour cela, un fragment du génome est choisi, la sensibilité de la technique pouvant varier selon la séquence choisie. Schématiquement, la réaction va permettre la multiplication d'un fragment d'ADN présent au départ dans le prélèvement en des millions de copies. Ces copies sont ensuite mises en évidence par différentes techniques. Diverses techniques PCR, de sensibilité différente selon les techniques de mise en évidence des copies sont décrites. Cette technique a d'abord été très utilisée par les épidémiologistes. On a par exemple montré l'importance du portage asymptomatique chez les chiens vivant en zone d'endémie. Une étude effectuée dans le sud de la France a montré que 50 % à 80 % des prélèvements de conjonctive ou de peau sont positifs.
A partir de ces travaux, on pourrait en conclure une sensibilité trop importante de la PCR qui détecterait des parasites même chez des animaux sains. Sur d'autres prélèvements, en particulier de moelle osseuse, la PCR est plus performante que la sérologie dans certaines situations. Ce qu'attend le clinicien de la PCR sur un prélèvement de moelle osseuse, sur une ponction ganglionnaire ou sur le sang, n'est pas de même nature que ce qu'en attend l'épidémiologiste. Le premier cherche à porter un diagnostic, alors que le second veut dépister des porteurs de parasites. Suivant le but recherché, le prélèvement diffère.

L'envoi se fait sur un tube EDTA à l'un des laboratoires qui en France ou en Espagne pratiquent cette technique pour un coût modique. La sensibilité de ces techniques peut varier

de façon importante, en particulier selon les amorces utilisées par le laboratoire, les tests utilisant les amorces issues du kinétoplaste du parasite étant les plus sensibles. Il est important aussi de s'assurer que le laboratoire a validé sa technique en la comparant à la technique de référence, et a établi un seuil de détection pour la bandelette urinaire. De manière fréquente, la leishmaniose provoque une insuffisance rénale avec une baisse attendue de la densité urinaire. Il faut noter que la concentration élevée en protéines dans les urines augmente la densité, masquant alors la dilution de celle-ci.
L'élément évocateur d'une leishmaniose est donc une protéinurie massive d'origine glomérulaire (réaction de Heller très positive).

Examens complémentaires pouvant aider au diagnostic de la leishmaniose

Ces examens sont nécessaires car de plus en plus de leishmanioses donnent des tableaux cliniques atypiques, frustres voire très éloignés des cas classiques.

Un bon réflexe en zone d'endémie est certes de pratiquer une sérologie mais également d'effectuer un bilan biologique "classique" afin d'établir un diagnostic de la leishmaniose :

- électrophorèse des protéines sériques
- numération formule sanguine
- azotémie / créatinémie
- protéinurie

Il se dégage de ces examens un signe majeur qui est l'électrophorèse des protéines sériques.

L'électrophorèse des protéines sériques (EPS)

L'intérêt de l'électrophorèse des protéines sériques réside dans la suspicion diagnostique, l'ancienneté dans la maladie, dans le suivi du traitement, dans la prédiction des rechutes.
Certes, l'EPS n'est en général pas un examen de valeur diagnostique, pourtant celui-ci peut permettre de diagnostiquer des pics monoclonaux d'Ig par exemple ou de suspecter fortement une amylose rénale. En cas de suspicion de leishmaniose, cet examen peut avoir quasiment un rôle diagnostique ou du moins permettre de se mettre dans des conditions de "très forte suspicion".
Les facteurs les plus intéressants à considérer sont :
- l'augmentation des protéines

- la chute de l'albumine
- la chute très importante du rapport albumine/globulines

Toutefois l'électrophorèse est un tout et il est beaucoup plus intéressant de la réaliser plutôt que de doser juste les protéines totales et l'albumine. (électrophorèse des protéines très étudiée par le Docteur Groulade)

Les éléments mineurs

Des éléments non négligeables peuvent faire évoquer la leishmaniose.

Numération / formule sanguine

On détecte la présence d'une anémie. Plus l'anémie est sévère, plus elle a du mal à régresser et moins bon est le pronostic à moyen terme ; le rein synthétisant l'érythropoïétine.

L'anémie que l'on rencontre chez des chiens atteints de Leishmaniose est complexe d'une part à cause d'un défaut de synthèse de l'érythopoïétine et d'autre part par la réaction face à l'infection.

Bilan rénal

Le bilan révèle une urémie élevée ainsi qu'une forte créatininémie.

Parfois une "discordance" urée / créatinine peut être un très bon signe d'appel en faveur de la leishmaniose (exemple typique : urémie 1,9 g/l ; créatininémie : 17 mg/1).

La protéinurie (réaction de Heller) est un bon indice de la gravité de la glomérulonéphrite ; en général les protéinuries importantes évoluent avec une urémie élevée. Il serait intéressant de réaliser une étude plus sérieuse de ces protéinuries qui pourraient avoir une valeur de pronostic supérieure au dosage de l'urée seule et de se demander l'intérêt de l'électrophorèse des protéines urinaires.

Bilan hépatique

Le bilan hépatique ne présente aucun intérêt dans une optique d'aide au diagnostic.

Taux d'Ac anti-nucléaires (ACAN)

Chez l'Homme on sait que beaucoup de maladies chroniques peuvent donner des anomalies immunologiques avec un taux des ACAN positif ; chez le chien, actuellement, il semble clair qu'on ait assez souvent des taux d'ACAN faiblement positifs lors de la leishmaniose. Bien sûr, il n'est pas question de doser les ACAN si l'on suspecte une leishmaniose canine. [56]

Examen cytologique

La cytologie a un intérêt déterminant lors de suspicion de leishmaniose.

✳ Cytologie des nœuds lymphatiques : la dissémination des amastigotes provoque une réaction immunitaire de l'hôte qui concerne les tissus lymphoïdes. Ainsi, la polyadénomégalie est un signe très fréquent dans les formes cliniques de leishmaniose. Des modifications cytologiques sont observées parallèlement à la modification macroscopique, mais elles peuvent également être présentes sur des nœuds lymphatiques non hypertrophiés. Il est donc important de les ponctionner, même s'ils semblent de taille normale. Plus rarement, les nœuds lymphatiques peuvent être hypertrophiés sans anomalies cytologiques associées. L'hyperplasie lymphoïde est de loin la modification majeure observée lors d'infiltration par des leishmanies. Elle peut être associée à une augmentation de la proportion en macrophages, on parle d'adénite granulomateuse. Elle se caractérise par une population lymphocytaire prédominante et des plasmocytes représentant plus de 5 % de la population nodale. La présence de plasmocytes s'explique par une activation polyclonale et la prolifération de lymphocytes B.

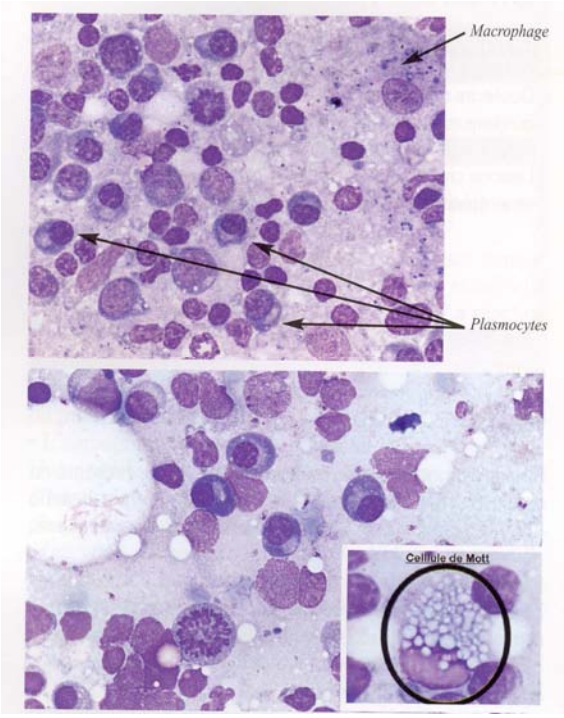


Figure 41 [71]

Hyperplasie plasmocytaire dans un nœud lymphatique.

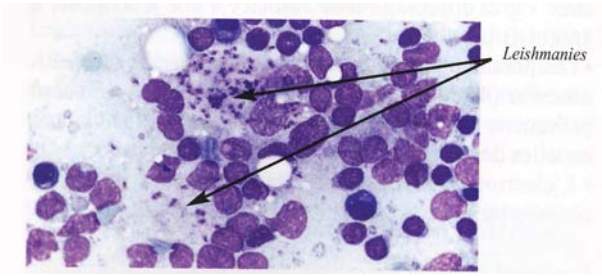


Figure 42 [71]

Leishmanies libres dans le cytoplasme d'un macrophage dans un nœud lymphatique hyperplasique plasmocytaire.

Les éléments évocateurs d'un cas de leishmaniose sont : l'hyperplasie lymphoïde, l'adénite granulomateuse et/ou l'hyperplasie plasmocytaire.

✳ Cytologie de la moelle osseuse : la moelle est un tissu qui est souvent très riche en leishmanies. On peut observer, comme dans les nœuds lymphatiques, une augmentation des proportions relatives en plasmocytes, macrophages et/ou lymphocytes. La moelle s'examine comme tout prélèvement cytologique à faible grossissement afin d'évaluer les différentes lignées cellulaires et éventuellement suspecter la présence de leishmanies. Une hyperplasie plasmocytaire et/ou granulomateuse révélée par le comptage manuel de la moelle, doit entraîner la recherche du parasite. Celui-ci sera recherché préférentiellement dans les zones denses en macrophages. Il peut être libre dans le fond de frottis suite à une lyse des macrophages. Lors d'hyperplasie plasmocytaire importante, le myélome multiple doit faire partie du diagnostic différentiel.
L'élément évocateur d'un cas de leishmanie est une hyperplasie granulomateuse et/ou plasmocytaire.

✳ Cytologie cutanée : la cytologie peut également se faire sur des lésions cutanées, par cytoponction des nodules par exemple. Certaines lésions cutanées peuvent être riches en parasites et un infiltrat de cellules lymphoïdes est également présent (lymphocytes, plus ou moins des histiocytes et d'autres cellules inflammatoires).

Quel est le meilleur examen complémentaire?

Cette question est essentielle pour les praticiens : les moyens de nos clients ne sont pas toujours extensibles et les praticiens ne doivent ni céder à la facilité des "bilans complets" avec multiplication des examens de laboratoire, ni succomber aux critères de la mode.

Quand on n'a pas pu mettre en évidence de parasites, le choix se fait entre la sérologie et la PCR.

Deux études sont à connaître, afin de comprendre l'intérêt et les limites de ces deux techniques. L'étude princeps montre l'intérêt de la PCR, en la comparant à la mise en évidence du parasite et à la sérologie J21. Dans cette première étude, les auteurs font un diagnostic de leishmaniose sur 46 chiens, par mise en évidence directe du parasite sur moelle osseuse et sur examen immunohisto-chimique de biopsies d'organes atteints. Chez ces 46 chiens malades, ils obtiennent 45 résultats positifs par PCR, alors que 42 chiens seulement sont positifs à l'examen sérologique (technique d'immunofluorescence indirecte), soit presque 10 % de faux négatifs.

Technique diagnostique	Chiens sains (41 chiens)	Chiens atteints de LC (46 chiens)
Examen direct de la moelle osseuse positif	0	28 chiens (61 %)
Sérologie positive (immunofluorescence)	6 chiens	42 chiens (91 %)
Polymerase Chain Reaction (sur un échantillon de moelle osseuse).	0	45 chiens (98 %)

Tableau 4 [44]

Résultats pour différentes techniques de diagnostic de la leishmaniose sur 87 chiens. Le diagnostic chez les 46 chiens atteints est fait après mise en évidence de parasites dans les lésions par technique immunohistochimique.

Cette étude est aussi intéressante parce qu'elle reprend les conditions dans lesquelles se trouve un praticien exerçant autour de la Méditerranée : les chiens sont présentés en début de maladie ; l'échantillon de ces animaux est donc assez représentatif de ce que nous rencontrons en zone d'endémie.

Il est intéressant de noter aussi que sur les 41 chiens sains examinés, aucun n'est positif pour la PCR sur moelle osseuse, alors que l'on trouve six porteurs asymptomatiques par l'examen sérologique.

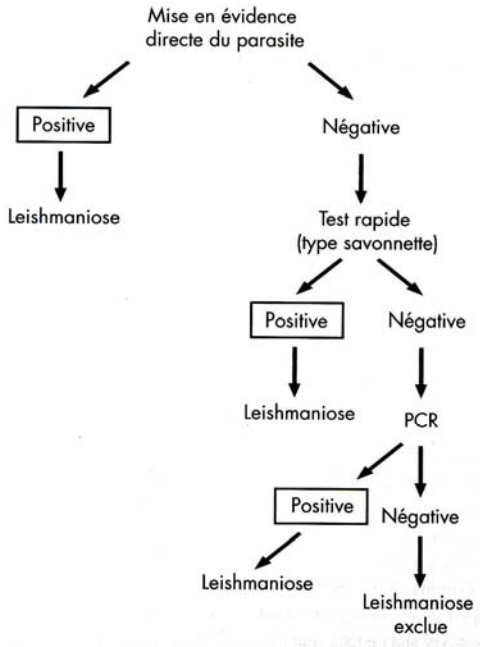


Figure 43 [43]

Stratégie diagnostique applicable en clientèle courante en zone d'endémie face à une suspicion de leishmaniose.

Conclusion

La leishmaniose est une maladie infectieuse en voie d'extension géographique. Les signes cliniques sont très polymorphes et parfois peu évocateurs pour un praticien peu familier avec cette affection. Des outils diagnostiques simples sont à sa disposition : la biologie clinique oriente puis la cytologie conduit bien souvent au diagnostic de certitude ainsi qu'à une grande satisfaction personnelle.

Il n'existe pas d'examens complémentaires diagnostiques uniques offrant une sensibilité et une spécificité optimales en toutes circonstances. Les différentes techniques sérologiques (immunofluorescence indirecte, technique ELISA ou les tests rapides) sont incontournables mais ont leurs limites. La technique PCR permet d'améliorer le diagnostic, en détectant d'une part les animaux précocement infectés et, d'autre part, les cas où la maladie s'accompagne d'une immunité à médiation cellulaire et de l'absence des anticorps détectés habituellement par les techniques sérologiques. Il est donc important que l'usage de ces techniques se développe, en particulier en zone d'endémie, afin d'améliorer la prise en charge de cette zoonose. [53]

Technique	Quantité de leishmanies dans le prélèvement	Commentaires
Ponction de moelle osseuse ★★★	Très élevée	Observation facilitée par la clarté du fond Présence de leishmanies souvent accompagnée d'une population plasmocytaire
Calque par étalement du produit de ponction d'un nodule ★★		Présence de leishmanies souvent accompagnée de nombreux plasmocytes et de cellules lymphoïdes
Biopsie cutanée des ulcères ou nodules ★★		Lésions histologiques fortement évocatrices, même si aucune leishmanie n'est observée sur les coupes : accumulation de macrophages, de cellules géantes multinucléées et de quelques lymphocytes, plasmocytes et polynucléaires neutrophiles dans le derme superficiel et profond
Copeaux cutanés ★	Peu élevée	Technique délicate à réaliser
Calque par étalement du produit de ponction d'un nœud lymphatique ★	Faible (rares parasites disséminés)	Observation rendue difficile par la forte cellularité Présence de leishmanies souvent accompagnée de nombreux plasmocytes et d'une proportion augmentée de centroblastes et d'immunoblastes
Calque par étalement de pus prélevé par écouvillonnage d'une pustule ★	Faible	Eviter ce type de prélèvements (peu intéressants en général)
Frottis sanguin ★	Très faible (parasites rarement présents et en faible quantité)	
Frottis ou raclage conjonctival ★		

Tableau 5

Comparaison entre différentes techniques de prélèvement.

CAS CLINIQUES

La présentation des cas cliniques suivants a pour but de montrer le polymorphisme de la présentation clinique et l'intérêt des examens complémentaires.

<u>Cas clinique n°1</u>

Un dogue allemand aux signes cliniques frustres.

Calyps est un chien mâle croisé berger allemand âgé de 5 ans, vivant dans le Tarn. Il est présenté en consultation pour douleurs locomotrices, des difficultés à faire des selles et une incontinence urinaire.

✳ Examen clinique

Calyps est maigre, présente des lésions croûteuses et une alopécie sur la truffe, le bord libre des oreilles et les paupières.

Une splénomégalie est présente. Le reste de l'examen clinique est normal, aucune adénomégalie n'est objectivée.

L'examen orthopédique confirme une douleur à la manipulation de la jonction lombo-sacrée.

L'interrogatoire du propriétaire laisse suspecter une polyuropolydipsie plutôt qu'une incontinence urinaire vraie.

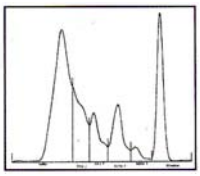
✳ Examens complémentaires de première intention

L'analyse d'urine : l'analyse biochimique donne un pH de 6,5 ; une densité de 1,020 et des plages nitrites, leucocytes et activité peroxydasique positive à la bandelette. La réaction de Heller est significative d'une forte protéinurie (4 mm). De très nombreux bacilles associés à des leucocytes sont observés au culot urinaire, laissant suspecter une infection du tractus urinaire.

L'hémogramme permet de constater une anémie normochrome normocytaire avec 7,4 g/dl d'hémoglobine. Les lignées des globules blancs et des plaquettes ne présentent pas d'anomalie.

Les analyses biochimiques révèlent plusieurs modifications : une hyperprotidémie à 110 g/l (N : 48-66), une hypercréatininémie à 19 mg/l (N : 5-15) et une urémie modérée à 0,61 g/l (N : 0,2-0,5). Les enzymes hépatiques (PAL et ALAT) sont dans les valeurs usuelles de l'espèce.

✳ Examens complémentaires de seconde intention



Une électrophorèse des protéines sériques est réalisée.

Les résultats chiffrés révèlent une augmentation des protéines sériques, une diminution du rapport Albumine/Globulines secondaire à une hypoalbuminémie modérée, une diminution des α1 globulines, et enfin une augmentation des α2, β2 et γ globulines. Les anomalies morphologiques se traduisent par un pic rond et large des α2 globulines et un bloc polyclonal en βγ.

	Valeur	Variation	VU Chien
Protéines sériques (g/l)	110	↑	60-75
Albumine	21	↓	22-35
Albumine/globulines	0,24	↓	0,5-1,2
α1	3,1	↓	5-8
α2	13,1	↑	5-10
β1	10,7	→	5-11
β2	17,7	↑	3-7
γ	144,4	↑	5-18

L'ensemble de ces anomalies est compatible avec un syndrome inflammatoire chronique, compatible avec une origine infectieuse type leishmaniose, ehrlichiose ou tumorale (lymphome) ou maladie à médiation immune.

Un myélogramme montre des leishmanies en grande quantité.

Une PCR leishmaniose sur sang EDTA confirme le diagnostic émis suite à la ponction osseuse.

En résumé cas n°1

Clinique	Biologie	Diagnostic
Amaigrissement	Protéinurie	Myélogramme
Douleurs articulaires, boiterie	ITU	PCR
Splénomégalie	IRC	
Lésions croûteuses et alopéciques	Anémie normocytaire normochrome Dysprotéinémie (hypoalbuminémie et hyperγβglobulinémie)	
Pas d'adénomégalie		

Cas clinique n°2

Un labrador abattu et fiévreux.

Basile est un labrador mâle castré de 5 ans, présenté en consultation pour abattement, anorexie et hyperthermie (39,9°C). Basile a des antécédents d'ulcères aux coussinets.

✳ Examen clinique

Le chien est en mauvais état général, avec un pelage terne et une amyotrophie marquée en région des fosses temporales.

✳ Examens complémentaires

L'analyse d'urine révèle une protéinurie marquée à la réaction de Heller (4 mm), une densité égale à 1,030 et un pH estimé à 6. Aucune anomalie n'est observée à la bandelette.

La numération formule met en évidence une anémie avec 7 g/dl d'hémoglobine associée à une leucopénie à 4600 GB/µl.

Les paramètres rénaux sont modifiés : une hypercréatininémie (45 mg/l) et une hyperurémie (1,61 g/l) sont présentes. Les protéines totales sont dans les valeurs usuelles de l'espèce : 74 g/l.

L'électrophorèse des protéines sériques est également réalisée, bien que les protéines totales soient normales.

Le rapport Albumine/Globulines est très fortement diminué, conséquence d'une sévère hypoalbuminémie et d'une augmentation des globulines (β et γ). Le profil dessine un pic étroit, élevé et pointu des α2 mais une augmentation de celles-ci. Les βγ globulines dessinent un bloc polyclonal important. Ce profil est compatible avec un processus inflammatoire à la fois aigu et chronique, associé à une hypoalbuminémie d'origine rénale (fuite glomérulaire).

L'électrophorèse des protéines présente ici un grand intérêt pour visualiser la distribution de l'ensemble des protéines qui se révèle anormale alors que la protidémie est normale.

Une ponction de moelle osseuse est réalisée et l'analyse cytologique met en évidence de nombreuses leishmanies. [71]

	Valeur	Variation	VU Chien
Protéines sériques (g/l)	74	→	60-75
Albumine	9,9	↓	22-35
Albumine/globulines	0,15	↓	0,5-1,2
α1	5,1	→	5-8
α2	9,3	→	5-10
β1	16,1	↑	5-11
β2	12,7	↑	3-7
γ	20,9	↑	5-18

En résumé cas n°2

Clinique	Biologie	Diagnostic
Mauvais état général	Protéinurie	Myélogramme
Fièvre d'origine indéterminée	IRC	
Dysorexie	Anémie normocytaire normochrome	
Amyotrophie	Leucopénie Dysprotidémie (hypoalbuminémie et hyperγβglobulinémie)	
Pas d'adénomégalie		

SUSPICION de LEISHMANIOSE

propriétaire: date:

animal: ❑ chien ❑ chat ❑ autre

épidémiologie	séjour en zone d'endémie		notes:

Tableau 6

Exemple de fiche aidant au diagnostic de leishmaniose canine.

TRAITEMENT

Alors que les thérapeutiques actuelles assurent une guérison totale des cas de leishmaniose humaine, il n'en est pas de même dans l'espèce canine. Il importe donc qu'un dépistage clinique de la maladie soit réalisé le plus rapidement possible chez le chien. En effet, s'il est effectué avec rigueur et relativement précocement, le traitement permet au chien de vivre normalement. Le traitement permet de faire quasiment disparaître les symptômes.
Le traitement administré aux chiens malades fait appel à plusieurs médicaments. Certains sont injectables, d'autres sont en comprimés. Ils sont souvent associés selon un calendrier individualisé. L'ensemble vise à contrer la multiplication du parasite, à apporter une amélioration temporaire et provisoire de la santé de l'animal, sans parvenir toutefois à l'éradiquer. La multiplication du parasite est contenue souvent pendant plusieurs années, grâce au traitement. Les rechutes sont donc fréquentes en cas d'arrêt du traitement. Celui-ci est envisagé à vie, quitte à l'adapter au cours des visites de contrôle périodiques (contrôles sérologiques ou hématologiques pour suivre l'évolution de la maladie et du traitement).
L'animal est condamné à plus ou moins longue échéance.
Si des lésions trop graves ou irréversibles existent, si le traitement est mal effectué ou le chien non suivi, il semble inutile de vouloir initier une thérapeutique. Dans ces cas, l'euthanasie du chien est recommandée.

Pour le propriétaire de chien et son vétérinaire, le succès du traitement correspond à une rémission clinique. Cette approche est recevable dans les régions où la maladie ne peut se transmettre, faute de phlébotomes, notamment en Europe du nord où ont été décrits des cas importés de zone endémique. Elle est, en revanche, inacceptable dans les zones de leishmaniose endémique où la maladie est transmissible à l'Homme ou aux autres chiens.
Pour le parasitologue, guérison est synonyme d'élimination totale du parasite chez son hôte. Pour les responsables de la santé publique, les entomologistes et les épidémiologistes, le succès passerait par l'arrêt de l'infection du vecteur à partir de son réservoir canin, stoppant ainsi la transmission à l'homme de parasites devenus résistants à certains médicaments.

La lecture des articles publiés sur les traitements contre la leishmaniose doit être critique car les méthodes d'évaluation utilisées varient selon les études. II s'agit de tenir compte des doses, des rythmes et des voies d'administration, de la durée du traitement et de la période d'observation.
Les traitements sont donnés seuls ou en association. D'autres facteurs tels que la race des chiens ou la souche de *Leishmania* en cause peuvent influer considérablement sur la réponse

au traitement. [20]

Antimoniate de méglumine

Les produits à base d'antimoine sont utilisés dans le traitement de la leishmaniose depuis 1912. Actuellement ce sont toujours les composés les plus largement utilisés tant chez l'Homme que chez le chien.

Ils présentent toutefois des limites parmi lesquelles l'apparition de résistances, la toxicité envers l'hôte traité, le coût et l'absence de guérison totale de nombreux chiens. Ces faiblesses ont conduit les cliniciens et les scientifiques à rechercher d'autres traitements, abordables et efficaces.

Les antimoniaux inhibent les enzymes leishmaniennes impliquées dans la glycolyse et l'oxydation des acides gras. L'antimoniate est excrété à 80 % dans l'urine au bout de 9 heures. Les injections intramusculaires peuvent entraîner des effets indésirables comme la fibrose musculaire et la formation d'abcès, des perturbations gastro-intestinales, des douleurs musculaires et des raideurs articulaires.

Le protocole le plus courant en pratique consiste à administrer 100 mg/kg de Glucantime® chaque jour pendant 3 ou 4 semaines par voie sous-cutanée ou par voie intraveineuse.

Dans une étude de SLAPPENDEL et TESKE (1997) 35 chiens sur 41 traités ont présenté une rémission clinique totale ou partielle et un diagnostic parasitologique négatif au bout de 3 à 6 semaines de traitement. Trois quarts des chiens ont rechuté dans l'année qui a suivi le traitement.

Une autre étude portant sur 60 chiens infectés expérimentalement par injection intraveineuse de promastigotes de *L. infantum* et traités avec 40,8 mg/kg d'antimoine par jour en sous-cutané a montré une parasitologie positive à l'issue du traitement chez tous les chiens. De plus, l'augmentation observée des taux d'anticorps anti-leishmanies dans les 3 à 5 mois qui suivent

le traitement indique une progression de la stimulation antigénique.
STEUBER et ai. (1999) ont traité 13 chiens infectés naturellement avec deux cycles d'administration d'antimoine : d'abord à 50 mg/kg pendant 2 jours puis 100 mg/kg pendant 8 jours. Douze des treize chiens présentaient une Polymerase Chain Reaction (PCR) positive après thérapie.

La thérapie utilisant l'antimoine est coûteuse et difficile à utiliser dans les zones les moins favorisées. Elle engendre également l'apparition de souches résistantes, au détriment des autres chiens et de l'Homme. [8]

Gambarelli et al. (1997) décrit 3 souches de *L. infantum* responsables de leishmaniose viscérale, également primo-résistantes aux antimoniates sur le bassin méditerranéen. L'apparition de résistances secondaires serait liée à une mauvaise utilisation, en particulier une durée de traitement trop courte. [20]

Allopurinol

L'allopurinol est un analogue de la purine, métabolisé par le parasite et incorporé dans son ARN engendrant une désorganisation de l'acide nucléique et l'interruption de la synthèse protéique. Il cause peu d'effets indésirables bien que son utilisation prolongée puisse entraîner l'apparition de cristaux urinaires de xanthine.
L'allopurinol est largement utilisé, seul ou en association dans le traitement de la leishmaniose canine. Son absence de toxicité relative, son efficacité dans l'amélioration clinique, son coût faible et sa facilité d'administration (voie orale) en font un traitement de choix. Il est souvent recommandé de l'administrer quotidiennement pendant une durée indéterminée.
L'étude de Kuhlencord et al. (1992) utilisant l'allopurinol à la dose de 10 mg/kg *per os* sur 10 chiens a montré une guérison clinique chez 9 animaux après 2 à 6 mois de traitement sans

rechute pendant les 20 mois suivants d'observation. Quelques temps plus tard, un certain nombre de chiens ont rechuté à l'arrêt du traitement. La plupart des chiens sont restés porteurs du parasite. [20]

A la dose de 5 mg/kg *per os* toutes les 8 heures, une étude sur 11 chiens montre une guérison clinique en deux mois de traitement. On observe une baisse du taux d'anticorps anti-leishmanies chez 9 chiens mais la plupart demeurent séropositifs.

L'étude de SLAPPENDEL et TESKE (1999) utilisant l'allopurinol à la dose de 20 mg/kg/j révèle un taux de survie à 4 ans de 78 % à condition que les chiens ne présentent pas d'insuffisance rénale lors de la mise en place du traitement. Ces résultats, similaires à ceux obtenus par les mêmes auteurs avec l'antimoine permettent, au vu des effets indésirables moindres, de préférer l'allopurinol dans le traitement de la leishmaniose canine. [39]

Combinaison allopurinol et antimoniate de méglumine

Le tableau ci-après résume les résultats thérapeutiques observés lors d'un traitement par Glucantime® et lors d'un traitement associant Zyloric®-Glucantime®.

Résultats	Nombre de cas	Pourcentage
Mort par insuffisance rénale	5	
Euthanasie d'emblée	15	
Traitement glucantime	34	100
Guérison clinique	18	53
Négativation sérologique	11	32
Echecs	16	47
Survie 2 ans (6 cas traités)	5	
Survie 3 ans (10 cas traités)	3	
Survie 4 ans (8 cas traités)	5	
Survie 5 ans (10 cas traités)	5	
Intolérance au glucantime	5	
Traitement Zyloric-glucantime	27	100
Guérison clinique	22	81.5
Négativation sérologique	2	7,4
Echecs	5	18,5
Survie 1 an (13 cas traités)	11	
Survie 2 ans (9 cas traités)	7	
Survie 3 ans (5 cas traités)	4	

L'utilisation de la méglumine seule permet la guérison clinique de 53 % des malades accompagnée de séroconversion négative dans 32 % des cas mais nécessite un très grand nombre d'injections, au moins 100! Les échecs recouvrent 11 euthanasies dues pour la

plupart à des rechutes de plus en plus graves ; 2 améliorations partielles et 3 uvéites.
Des réactions locales oedémateuses ou indurées au lieu d'injection (18 cas) nécessitent de varier les zones d'injections. Une réaction générale au bout des quatre à cinq premières injections est presque de règle et oblige à interrompre le traitement pendant cinq jours. Dans quelques cas (5 cas), les effets secondaires rendent la reprise du traitement impossible (perte de l'appétit, fatigue, douleurs généralisées, locomotion difficile) sans atteinte de la fonction rénale.

L'antimoniate de N-méthylglucamine semble peu néphrotoxique puisque dans deux cas seulement l'urée et la créatinine s'élèvent dès le début du traitement et reviennent à la normale avec son interruption. Beaucoup d'accidents qui lui sont incriminés surviennent sur des chiens dont la fonction rénale n'a probablement pas été correctement évaluée au début du traitement.

L'association de l'allopurinol et l'antimoniate de N-méthylglucamine augmente le taux de guérison clinique (81,5 %) tout en raccourcissant la durée du traitement injectable. Par contre, le taux de négativation sérologique est faible (7,4 %).
Les cinq échecs (18,5 %) sont constitués par une euthanasie motivée par la récidive d'une forme algique, deux morts par insuffisance rénale, un cas d'absence totale d'amélioration et un cas de remontée asymptomatique des anticorps quatre mois après la négativation sérologique. Jusqu'ici aucun des chiens qui ont reçu de l'allopurinol n'ont manifesté d'effets secondaires ou de signes d'intolérance.
En ce qui concerne les insuffisances rénales, les formes aiguës sont inéluctablement mortelles quels que soient les moyens mis en oeuvre alors que les formes subaiguës semblent bénéficier d'une corticothérapie associée à l'allopurinol. Utilisée dans un trop petit nombre de cas pour en tirer des conclusions (7 cas), la corticothérapie a toutefois permis à deux chiens de survivre depuis un an et à deux autres chiens de survivre depuis deux ans, deux d'entre eux se sont même négativés.
L'atteinte rénale est un élément très important du pronostic et constitue la principale cause d'échec. Dans cette série, l'âge, le sexe, la race, le titre en anticorps n'ont aucune influence sur les résultats thérapeutiques. [20] [24] [61]

Amphotéricine B (AmB)

En 1998, dans la région de la Côte d'Azur, 518 nouveaux cas ont été diagnostiqués sur des chiens, principalement en zones rurales ou suburbaines où 10 à 20 % des chiens sont infectés.

Dans la même année, l'incidence annuelle pour la maladie humaine était de 0,6 cas/100000 (entre 15 et 20 cas par an, 50 % de patients immunodéprimés et 30 % d'enfants de moins de 2 ans). Dans cette zone, il y a une relation directe entre le réservoir canin et la maladie humaine.
Sous ses diverses formes, l'Amphotéricine B devient le traitement de première ligne pour la leishmaniose viscérale humaine, particulièrement pour les malades co-infectés par le VIH. La ressemblance entre la leishmaniose canine et le modèle de leishmaniose sur des patients immunodéprimés a induit des études et une utilisation d'un même traitement sur les deux groupes. AmB est un macrolide polyénique naturel produit par certaines souches de *Streptomyces nodosus*. Il n'a pas ou peu d'effet sur la bactérie mais il est hautement actif in vitro contre beaucoup d'espèces de champignons et quelques protozoaires parasites, *y* compris les leishmanies.
La structure chimique a été élucidée en 1970 ; c'est un grand cycle lactone macrolide de 37 atomes de carbone. L'un des côtés du cycle est hydrophobe en vertu de la présence d'une chaîne conjuguée et l'autre côté portant sept groupes hydroxyles est hydrophile. En conséquence, la molécule est amphotérique.

Après dilution dans de l'eau, la molécule est présente dans trois états physiques distincts : monomères solubles (drogue active), oligomères solubles et agrégats insolubles. Cette dernière forme qui semble être la plus toxique agit en se liant aux stérols de la membrane cellulaire et altère ainsi la perméabilité membranaire. Elle tue la leishmania lorsque se forment dans la membrane plasmique des canaux perméables à des petits cations et anions (K^+, Na^+...)

Comme les cellules de mammifères ne contiennent pas d'ergostérol, l'amphotéricine B se lie moins fortement à ces cellules qu'aux parasites. Elle est insoluble dans beaucoup de solvants communs et sa nature chimique tend soit à la fragiliser au niveau des membranes bicouches soit à modifier la perméabilité des cellules, ce qui permet la sortie essentiellement du K^+, des cations monovalents, des protons et des métabolites essentiels ; ce qui est la base à la fois de son activité létale contre les champignons et de sa toxicité.

L'AmB est connu pour ses effets néphrotoxiques. Le mécanisme principal de la néphrotoxicité se fait via la vasoconstriction rénale et la réduction du débit de filtration glomérulaire (DFG).
D'après des essais, la néphrotoxicité peut facilement être réduite par la surveillance de la fonction rénale pendant la thérapie. Heureusement les chiens semblent mieux tolérer

l'AmB que les humains.

L'AmB est utilisable sous forme libre (hautement néphrotoxique) (Fungizone®) ou sous forme liposomale (Ambisome®) ou en émulsion.

Solution d'Amphotéricine B (Fungizone®)

Elle a été la première forme galénique validée commercialement de l'AmB pour injection. Elle contient du désoxycholate comme agent de solubilité. La poudre est reconstituée avec de l'eau stérile pour une injection et elle est alors stable pour une semaine si elle est gardée au réfrigérateur à l'abri de la lumière.

Plusieurs protocoles peuvent être suivis :

- Administration sous-cutanée (Malik et al. 1996).

L'Amb est administrée en sous-cutanée 2 ou 3 fois par semaine. La dose d'AmB est ajoutée à 500 ml de solution à 0,45 % contenant 2,5 % de dextrose pour une dose totale de 8 à 26 mg/kg.

- Perfusion rapide (NOXON, 1989)

L'AmB est diluée dans 5 % de dextrose et perfusée pendant 5 min en utilisant 0,5 mg/kg trois fois par semaine jusqu'à obtenir une dose de 9 à 12 mg/kg.

- Perfusion très rapide (LANOTHE, 1997) [50] [51] [52] [53]

La drogue est administrée par voie intraveineuse en bolus (pendant 15 à 45 secondes) à une dose de 0,5 à 0,8 mg/kg deux à trois fois par semaine jusqu'à ce que le dosage de 8 à 15 mg/kg soit atteint. La créatininémie doit être suivie de façon très stricte (une fois par semaine ou à chaque administration). Le traitement est suspendu temporairement lorsque la concentration sanguine de créatinine dépasse 25 mg/l (220 µmol/l).

Sur 30 chiens traités avec ce protocole, une guérison clinique a été obtenue pour 28 chiens (80 %) et 27 chiens (90 %) parmi les chiens traités ne rechutèrent pas après 12 mois même sans avoir d'autre traitement.

AmB dans des émulsions de lipides

WALKER et al. (1998) ont utilisé un mélange avec une concentration d'AmB variant de 0,6 mg/ml à 1,2 mg/ml. La préparation était stable pendant 21 jours et ne produisait pas de précipité. Dans cette étude, 15 chiens ont été traités en utilisant différentes formulations et une bonne guérison clinique a été obtenue pour 14 chiens (93 %). Les effets secondaires englobent l'anorexie et une insuffisance rénale réversible. Sur 9 chiens traités avec le mélange, la moelle osseuse de huit d'entre eux a été examinée pour la recherche de leishmanies par PCR, un à trois mois après le traitement : sept étaient négatifs. Davantage d'investigations montreront si oui ou non ils étaient guéris.

Le risque de créer des souches résistantes à l'AmB chez le chien est encore inconnu. Une résistance secondaire en culture a pu être obtenue à partir de souche de *L. donovani* par une pression de sélection consistant en un accroissement de la concentration de l'AmB dans le milieu de culture. En effet, la composition de la membrane cellulaire en lipide dans la souche sensible à l'AmB, est formée en majorité d'ergostérol tandis que dans la souche résistante, la majorité est formée par un précurseur de l'ergostérol expliquant le phénomène de résistance.

Pentamidine

L'isothionate de pentamidine (Lomidine®) est un dérivé aromatique utilisé principalement contre la babésiose et la trypanosomiase. Elle a des effets indésirables : irritation musculaire au point d'injection, hypotension, tachycardie et vomissements. La plupart des chiens sous traitement à base de pentamidine présentent une amélioration clinique puis rechutent plusieurs mois après le traitement.

Une étude de RHALEM et al. (1999) porte sur 8 chiens (trois infectés naturellement, 5 expérimentalement) traités au diméthasulfonate de pentamidine en deux cures séparées de trois semaines : chaque session de traitement consiste en huit injections intramusculaires de 4 mg/kg avec un intervalle de trois jours entre chaque injection. Les chiens présentent une amélioration clinique, une baisse du taux d'anticorps et une réponse immunitaire cellulaire spécifique. Un examen parasitaire par mise en culture et cytologie après traitement sur deux des chiens inoculés expérimentalement donne des résultats négatifs six mois après l'arrêt du traitement. Toutefois, cette molécule est abandonnée en raison des nécroses locales qu'elle provoque par voie intramusculaire ainsi que des chocs mortels déclenchés par la voie intraveineuse et parfois par la voie intramusculaire. [8]

Aminosidine

L'aminosidine est un antibiotique de la famille des aminoglycosides utilisé pour le traitement de la leishmaniose viscérale chez l'Homme en Afrique et en Europe. Un traitement chez le chien à la dose de 20 mg/kg/j pendant quinze jours entraîne une amélioration clinique suivie d'une rechute clinique et parasitaire dans les 50-100 jours suivant la mise en place du traitement. Des doses plus élevées (40 mg/kg/j pendant trente jours et 80 mg/kg/j pendant vingt jours) donnent de piètres résultats parasitologiques, associés à de la mortalité et des effets indésirables sérieux (cécité, surdité).

Une étude de Poli et al. (1997) emploie l'aminosidine à la dose 10 mg/kg/j par voie sous-cutanée pendant quatre semaines sur douze chiens. Onze chiens présentent une amélioration clinique dans les trente jours, les quatre chiens prélevés pour mise en culture à partir des nœuds lymphatiques avant traitement demeurent positifs en parasitologie après traitement.[8]

Autres composés actifs

Miltéfosine

L'hexadecylphosphocholine (miltefosine®) s'accumule dans les macrophages et est actif contre les leishmanies. II est efficace chez l'Homme et la souris dans le traitement de la leishmaniose. Il induit des effets indésirables sévères chez le chien.

D'autres produits ont été testés : le métronidazole, le kétoconazole, le fluconazole, l'itraconazole et la terbinafine mais sont moins efficaces que les sels d'antimoine dans la réduction de la charge parasitaire chez la souris même si le kétoconazole révèle une bonne activité contre les parasites spléniques.

Corticothérapie

1-2 mg/kg/j *per os*, administrée à dose immunosuppressive et à posologie dégressive pendant les deux à trois premières semaines de traitement anti-leishmanien, permet de réduire les immuns-complexes. Cette approche est particulièrement utile en cas d'insuffisance rénale, polyarthrite ou d'atteinte oculaire. En effet, le pronostic des insuffisances rénales aiguës ou terminales étant désespéré, les corticoïdes agiraient en faisant disparaître les dépôts d'immuns complexes responsables de la glomérulonéphrite. [31]

Marbofloxacine

Marbofloxacine (Marbocyl®) à la posologie de 2 mg/kg/j *per os* pendant 28 jours a montré une bonne efficacité au cours d'une étude menée par le laboratoire Vétoquinol (hors AMM) chez les chiens ne présentant pas d'insuffisance rénale. La molécule aurait un effet direct sur les formes amastigotes intracellulaires ainsi qu'un effet immunomodulateur. Elle pourrait compléter utilement le traitement de référence à base de Glucantime®.

Diététique

Commercialisé par Affinity Petcare, l'aliment Advance Leishmaniasis Management (gamme Advance Veterinary Diet) est destiné aux chiens leishmaniens. L'argument avancé par le fabricant est une teneur augmentée en anti-oxydants (vit E, vit C, taurine, sélénium, …) et réduite en bases purines permettant d'éviter les calculs urinaires éventuellement liés à l'administration d'allopurinol. La complémentation en facteurs dermotropes (ac. Linoléique, biotine, zinc, oméga 3...) vise également à favoriser la guérison des lésions cutanées inhérentes à la leishmaniose.

La leishmaniose canine n'a pour l'instant pas trouvé de remède miracle. Il est souhaitable que les leishmanioses humaine et canine soient traitées avec plusieurs composés, si possible avec des modes d'action variés afin de limiter le danger lié à l'apparition de souches résistantes. De nouvelles molécules, de nouvelles voies d'administration sont nécessaires pour améliorer le traitement de la leishmaniose canine afin d'obtenir une guérison parasitaire.

Voici un protocole de traitement et une fiche de suivi du traitement que les vétérinaires peuvent utiliser :

CLINIQUE VETERINAIRE

MEDECINE - MEDECINE - MEDECINE - CHIRURGIE - MEDECINE - MEDECINE

x, Rue Xxxxx Xxxxxxx - 99999 XXXXXXXX-XXX-XXXXX - Tél.: 01 44 44 44 44 - Fax: 01 44 44 44 44

Consultations sur rendez-vous - Téléphoner en cas d'urgence

☐ Xxxxxxxx VITVET
Docteur Vétérinaire

Xxxxxxxxxx, le 12 octobre 2007

☐

Pour le chien/chat " _____ " de M. Mme

Cet animal nécessite un traitement à vie: la prescription nécessaire ainsi que la posologie seront réévaluées par le vétérinaire lors des visites de contrôle périodiques. La prochaine visite est prévue: _____

1. **GLUCANTIME ampoules 1,5g / 5 ml**
   Injecter _____ ml par voie sous-cutanée, une fois par jour pendant 1 mois, conformément aux explications fournies en consultation.
   Changer de lieu d'injection à chaque fois. Une baisse de forme est souvent décrite dans les premiers jours du traitement.
   L'aide d'une tierce personne peut se révéler nécessaire pour maintenir l'animal.
   Dans tous les cas, poursuivre le traitement jusqu'à son terme, sauf avis contraire du prescripteur.
   Renouvellement interdit

2. **Seringues UU, aiguilles 0,6 x 25mm UU, alcool 70°** _____ qs

3. **ALLOPURINOL générique ZYLORIC 100mg ZYLORIC 200mg ZYLORIC 300mg**
   Faire avaler _____ comprimés, matin et soir, pendant _____ mois.
   Puis _____ comprimés matin et soir, _____ jours par mois, pendant _____ mois.
   De mai à octobre, si le chien séjourne en zone infestée par le moustique phlébotome, faire avaler _____ comprimés matin et soir, chaque jour.

4. **SCALIBOR Collier pour petit chien et chien moyen / Collier pour grand chien**
   Renouvellement au secrétariat du cabinet vétérinaire
   De mai à octobre, en zone infestée par le moustique phlébotome, mettre au cou du chien un collier adapté à sa taille. Remplacer le collier sans délai en cas de perte. Efficace 5 mois.
   Le collier nécessite une semaine avant d'atteindre son efficacité maximale. Il n'a aucune efficacité contre les puces et doit être complété à ce sujet par un autre antiparasitaire externe.
   Rentrer le chien dans l'habitation dès la tombée de la nuit.

5. **ADVANTIX spot on Très petit chien (1,5-4kg) / Petit chien (4-10kg) / Chien moyen (10-25kg) / Grand chien (25-40kg) / associer plusieurs pipettes au-delà de 40 kg**
   Renouvellement au secrétariat du cabinet vétérinaire
   De mai à octobre, en zone infestée par le moustique phlébotome, appliquer le contenu d'une dosette sur l'encolure du chien, toutes les 3 semaines.
   Rentrer le chien dans l'habitation dès la tombée de la nuit.

6. **ADVANCE LEISHMANIASIS MANAGEMENT** d'Affinity Petcare, série Advance Veterinary Diet
   Renouvellement au secrétariat du cabinet vétérinaire
   Cet aliment complet est élaboré spécifiquement pour les chiens leishmaniens + eau à disposition.

TRAITEMENT LEISHMANIOSE

propriétaire :

animal:

GLUCANTIME inj

date	

ALLOPURINOL comp

date	matin	soir

ALLOPURINOL comp

date	matin	soir

PROPHYLAXIE

Vaccination

De nombreuses études sont actuellement menées en laboratoire et sur le terrain à l'encontre de diverses leishmanies et chez plusieurs espèces animales mais à l'heure actuelle, il n'existe aucun vaccin antileishmanien utilisable chez le chien. En effet, les expériences de terrain n'ont pas encore apporté la preuve d'une protection efficace.

Jusqu'alors, plusieurs vaccins canins, élaborés pour la plupart à partir de parasites entiers lyophilisés, se sont avérés peu efficaces. Une équipe du centre de recherche de l'IRD de Montpellier, en collaboration avec la clinique vétérinaire du Rocher et l'entreprise biopharmaceutique Bio Véto Test vient de mettre au point et de tester un nouveau type de vaccins, composé uniquement des protéines excrétées par le parasite. D'après les premiers essais réalisés, celui-ci protégerait totalement et durablement les chiens contre la maladie.

Sur les dix-huit chiens inclus dans l'étude, douze d'entre eux ont été traités avec des doses croissantes de protéines excrétées par le parasite (soit 50, 100, 200 microgrammes) formulées avec un adjuvant, les six autres ne recevant aucun traitement. Après deux injections à trois semaines d'intervalle, tous les animaux ont été infectés avec *L. infantum*, puis suivis pendant deux années afin d'étudier la progression de la maladie. Le mélange de protéines parasitaires s'est ainsi avéré particulièrement efficace, une protection de 100 % ayant été obtenue pour les doses de 100 microgrammes (six chiens immunisés sur six) et 200 microgrammes (trois chiens sur trois).

Les chercheurs se sont également penchés sur les changements immunitaires induits par la vaccination chez les animaux. Des expériences réalisées au laboratoire montrent que l'efficacité du vaccin se traduit par une activation de certaines cellules du système immunitaire, les lymphocytes T de type Thl. Ceux-ci induisent la production, par les macrophages infectés, d'un véritable poison cellulaire, l'oxyde nitrique. Ce processus, absent chez le chien non traité, permet ainsi aux macrophages de se débarrasser des parasites qui les infectent. L'animal est ainsi protégé à long terme contre la leishmaniose viscérale. [17]

D'autres vaccins sont en cours d'étude :

Un vaccin est en phase I à base de leishmanies tuées, extraites de salive de phlébotome et adjuvées de saponine.

Un autre vaccin dénommé Canileish® est en cours d'essai. Il est à base d'antigènes d'excrétion et de sécrétion de promastigotes avec comme adjuvant du muramyl dipeptide. Il induirait une immunité protectrice en zone d'enzootie chez des chiens de propriétaires pendant un an.

Bien que ces vaccins aient fait leurs preuves que sur un nombre limité d'animaux, ils constituent un pas de plus vers la protection des chiens contre cette maladie. Ces résultats, que confirment les premières données très encourageantes issues d'un essai clinique actuellement mené à plus grande échelle (phase III), laissent présager d'une réduction de la transmission de la leishmaniose viscérale à l'Homme. Ils offrent également de nouvelles pistes pour la mise au point d'un éventuel vaccin humain.

Lutte anti-vectorielle

Les gîtes de repos des phlébotomes étant difficilement localisables, l'efficacité de la lutte par épandage d'insecticides est souvent décevante. La lutte anti-vectorielle doit être entreprise de façon plus ciblée. Les opérations comprennent l'utilisation d'insecticides à forte rémanence (groupe des organochlorés, organophosphorés), à faible rémanence (groupe des pyréthrinoïdes) ou recrutés dans des classes chimiques diverses. Des brouillards d'hexachlorohexane (HCH, groupe des organochlorés) ou de dérivés organophosphorés sont utilisés pour les caves et les chenils.

Ces traitements sont recommandés peu de temps après les premières éclosions (mai-juin) ou en période de pleine activité des adultes (15 juillet / 15 août) entre 21 h et minuit. Leur utilisation régulière ainsi que leur épandage dans les locaux d'élevage et le biotope immédiat représente une charge financière importante (emploi de concentrés, appareil de brumisation, main d'œuvre).

Une meilleure connaissance de la biologie des phlébotomes nous permettra peut-être de découvrir quelle substance attractive ces insectes détectent-ils chez le chien qui est leur principal hôte.

Monsieur H. Martinez, Docteur, s'est penché de plus près sur ce phénomène en recherchant le tropisme du phlébotome pour la peau du chien. Compte tenu du fait qu'un animal malade, en période d'état, dégage très souvent une odeur caractéristique, on est en mesure de se demander si les sécrétions sébacées du chien ne jouent pas un rôle attractif déterminant. [41] [70]

De plus, il faut également veiller à limiter les niches et les abris favorables aux phlébotomes aux stades larvaires et adulte autour des zones d'habitation : éviter les eaux stagnantes dans les jardins, détruire les déchets organiques, enduire les murs, abris de bétail avec de la chaux.

Prévention : le seul moyen de lutte contre la leishmaniose

En l'absence d'un vaccin, la seule solution efficace pour protéger au maximum son chien est l'usage pendant les mois à risque d'un insecticide qui empêche les piqûres de moustiques. C'est ce que recommande l'Organisation Mondiale de la Santé. « parmi les stratégies importantes, citons la régulation des phlébotomes à l'échelle locale, l'emploi de colliers de chiens imprégnés de deltaméthrine (un insecticide) et la diffusion d'informations auprès de la population ». (Réunion de l'OMS du 5 décembre 2005)

Prévenir les piqûres

Pour se protéger de la leishmaniose, la seule solution est d'empêcher les chiens de se faire piquer. Les phlébotomes prolifèrent de mai à octobre, période pendant laquelle les femelles se nourrissent de sang sur les mammifères. Si renoncer aux séjours sur la Côte d'Azur et son arrière pays est sans doute excessif, rentrer dans l'habitation le soir venu est une bonne habitude, sans oublier le chien dehors bien entendu.
Le vétérinaire Jean-Pierre Renaud souligne : « Dans le Sud, les gens sont de mieux en mieux informés. Ils savent que ce moustique vit dans les forêts de chênes verts et qu'il pique à la tombée du jour. Du coup, personne ne promène son chien en bordure de forêt en fin de journée. » Autre précaution à prendre : comme le phlébotome ne vole qu'à un mètre de haut maximum, dans les maisons, il vaut mieux faire dormir son chien à l'étage. De même, disposer des moustiquaires est un frein à l'invasion des insectes de toute nature, même si la taille du moucheron phlébotome est inférieure à celle des mailles. Autant de précautions à garder en mémoire, en particulier pour les habitants du nord de la France qui vont passer leurs vacances dans le sud avec leur fidèle compagnon. [64]

Insecticides

L'utilisation d'insecticides et de répulsifs a un effet prouvé par de nombreuses études. En effet un collier imprégné de deltaméthrine protège le chien en diminuant de 96 % le risque de piqûre avec une activité maintenue pendant plus de 34 semaines, ce qui couvre très largement la période d'activité des phlébotomes dans le bassin méditerranéen. Les sprays insecticides à action rémanente appliqués sur le pelage du chien ont aussi fait preuve de leur efficacité au cours d'études expérimentales. L'OMS recommande ce type

de collier à base de deltaméthrine : il permet au chien de recevoir en une seule fois la totalité de la deltaméthrine nécessaire et assure sa diffusion dans la durée. Le laboratoire Hoexhst Roussel Vet" a récemment présenté ce type de collier (Scalibor®), puissant insecticide efficace contre les puces et les tiques, un produit qui, selon Hoechst, permet aussi de repousser 96 % des piqûres de phlébotomes pendant plus de 8 mois. [20]

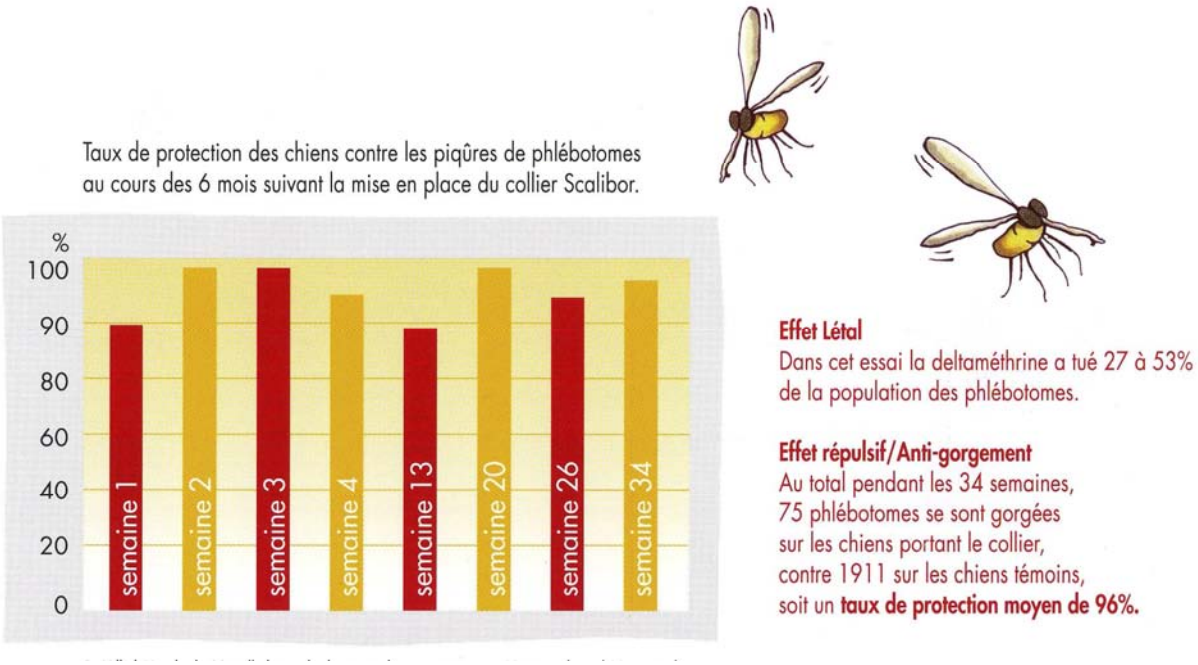


Figure 44 [49]

Taux de protection des chiens contre les piqûres de phlébotomes au cours des six mois suivant la mise en place du collier Scalibor®.

Les résultats préliminaires de plusieurs essais sur l'utilisation de Scalibor-collier dans le contrôle de la leishmaniose canine en vue de diminuer le risque pour l'homme ont été présentés lors du forum de Séville. Trois de ces essais sont présentés ici brièvement.

■ <u>Etudes pilotes en Italie du Sud (M. MAROLI et al., 1998, 1999)</u>

Ces études de terrain consistent à évaluer l'efficacité d'un collier imprégné de deltaméthrine, Scalibor®, dans le contrôle de la transmission de la leishmaniose canine, dans un foyer très

endémique de l'Italie du Sud en utilisant deux lots de chiens :
- chiens de propriétaires vivant proche d'une ville
- chiens errants vivant dans un chenil, dans le même secteur

Dans la première étude, les colliers Scalibor® ont été posés sur 70 % des 500 chiens de propriétaires vivant à San Sebastiano al Vesuvio au cours des deux périodes de transmission consécutives (1998 et 1999). Un groupe de chiens provenant de quatre villes voisines a servi de témoins négatifs. A la fin de chaque période de transmission, ont été déterminés les taux de séroconversion sur un groupe de chiens séronégatifs en début de saison.

A l'issue de la première saison : 2,7 % des chiens portant un collier sont devenus séropositifs contre 5,4 % chez les chiens témoins. Cette protection de 50 % n'est pas significative ($p = 0.15$).
A la fin de la deuxième saison : 3,5 % des chiens protégés présentent une séroconversion contre 25,8 % chez les chiens témoins, montrant une protection significative de 86 % ($p<0.001$). Ces résultats suggèrent que l'impact d'une utilisation massive de Scalibor® est négligeable lorsque la transmission est faible mais peut être très élevé lorsque la transmission est forte, ce qui est le cas ici, lors de la deuxième saison.

Dans la seconde étude mise en place dans un chenil, un lot de 249 chiens errants testés séronégatifs avant la saison de transmission. Sur ces 249 chiens, 49 portent un collier, les 200 autres servant de témoins. La première évaluation sérologique, réalisée un à deux mois après la fin de la saison de phlébotomes, montre un taux de séroconversion de 6,1 % chez les chiens portant un collier, contre 24,7 % dans le groupe témoin (protection significative de 75,3 % $p = 0.009$). Une seconde évaluation sept à huit mois après l'exposition aux phlébotomes révèle un taux de séroconversion de 18,2 % chez les chiens portant un collier contre 38,2 % dans le groupe témoin, soit une protection significative de 53,3 % ($p<0,02$).

Ces résultats mettent en évidence que, chez les chiens errants, la protection est plus faible que chez les chiens de particuliers.

- Dans la première étude (chiens de propriétaires), les colliers ont été posés à la fois sur des chiens sains et sur des chiens infectés ; la forte protection observée résulte sans doute de la combinaison entre la protection individuelle et la protection de masse.

- Dans la seconde étude portant sur les chiens errants, les chiens non infectés portant un collier représentaient une fraction négligeable (7,5 %) dans un environnement de 650 chiens présents dans le chenil dont 180 déjà infectés en début d'étude. Dans ces conditions épidémiologiques très particulières, la forte protection apportée par le collier est presque étonnante.

■ Etude sur la leishmaniose viscérale zoonotique canine (Davies et al.)

Cet essai a été mené dans le Nord-ouest de l'Iran afin d'évaluer l'effet du collier Scalibor® sur le taux de transmission de *Leishmania infantum.* Dans neuf villages dits "d'intervention", tous les chiens ont été équipés de colliers ; les chiens de neuf autres villages ont servi de témoins négatifs. Ces dix-huit villages ont été apparentés sur la base des données de séroprévalence relevées avant le début de l'essai.

Les mesures d'évaluation de l'essai portent sur les taux de séroconversion chez les chiens et les jeunes enfants (moins de 10 ans) ainsi qu'un *"Leishmania Skin Test"* chez les enfants.

Les séroprévalences moyennes avant l'essai sont de 10,7 % chez les chiens et 7,8 % chez les enfants dans les neuf villages où le collier est utilisé et 10,9 % et 7,4 % respectivement dans les villages témoins. Les colliers sont posés en mars-avril, avant la saison de phlébotomes qui va de juillet à septembre. Des colliers de rechange fournis à l'avance permettent de remplacer les quelques colliers perdus et d'équiper les nouveaux chiens du village.

Les études préliminaires post-essai montrent une diminution significative du taux de séroconversion chez les chiens et les premiers tests sur les enfants indiquent à priori une baisse de l'incidence de l'infection leishmanienne.

■ Résultats préliminaires d'une étude de terrain réalisée au Brésil

Jacobina est une ville de l'Etat de Bahia où de nombreuses études s'intéressent à l'endémie de leishmaniose viscérale. Les chiens sont le principal réservoir de la maladie dont l'incidence cumulée atteint 36 %. Chez l'Homme, la prévalence de la leishmaniose viscérale est de 3,1 % touchant 4,3 enfants sur 1000 chaque année. Dans cette région, environ 7,5 enfants sur 2500 sont séropositifs en leishmaniose, 60 % d'entre eux présentant une forme subclinique de leishmaniose viscérale. L'objectif de l'étude est d'évaluer l'impact du collier Scalibor® dans le contrôle de la maladie humaine et canine.

Dans la ville de Jacobina sont définies deux régions : dans la région "Scalibor®", tous les chiens sont équipés d'un collier, changé tous les quatre mois pendant un an. Dans la région témoin, les chiens ne portent pas de collier et sont aussi suivis pendant un an. La leishmaniose viscérale humaine clinique est suivie mensuellement. Les tests sérologiques sont annuels.
Avant l'essai, la prévalence de la leishmaniose viscérale clinique était de 2,6 % (novembre 2000). Sur 2323 enfants examinés, 16 % étaient séropositifs. Sur 328 chiens testés, 38 % étaient séropositifs. La population à risque est constituée d'environ 1500 enfants et 1000 chiens. Durant l'essai, le collier a été gardé par 90 % des chiens. Dans la région témoin, 800 enfants et 600 chiens ont été suivis.
Au bout d'un an d'essai, un cas de leishmaniose viscérale dans la zone "Scalibor®"et trois cas dans la zone témoin ont été observés. Dans la zone "Scalibor®", la prévalence des chiens séropositifs est passée de 48 à 61 % contre 21 à 61 % dans la zone témoin, soit un taux de protection significatif de 26 %.
Néanmoins, les données de séroconversion des enfants et des chiens sont en cours d'évaluation et elles seules permettront de conclure quant à l'impact de l'utilisation du collier sur la maladie humaine. [60]

A la suite de cette étude un vaccin fut commercialisé au Brésil le Leishmune® à base d'une fraction d'une protéine de surface de *Leishmania donovani* purifiée avec comme adjuvant de la saponine. Il bloque la transmission en empêchant la survenue des signes cliniques et interdit la présence du parasite dans le derme. De plus, il a été démontré que les anticorps prélevés par la femelle phlébotomes au cours de son repas sanguin bloqueraient certaines phases de développement des leishmanies dans le vecteur et réduiraient ainsi son pouvoir infectant.

Le laboratoire Bayer a développé sur le même principe qu'un collier anti-puces, une pipette Advantix® qui dépose un liquide entre les omoplates du chien. Ce spot-on est à base d'imidaclopride et de perméthrine. Des essais uniquement en laboratoire ont été réalisés. Il porte l'indication « lutte contre les phlébotomes » mais pour être efficace il est nécessaire de répéter l'application toutes les 2 à 3 semaines selon la pression d'infestation.
Le laboratoire Virbac® commercialise Duowin® pulvérisation, spray à base de pyriproxyfène et de perméthrine pour lequel seuls des essais de laboratoires ont été réalisés. Il ne porte pas l'indication lutte contre les phlébotomes.

Campagne d'information : mettre en place une prévention

efficace, informer le public

Face à cette situation les autorités sanitaires agissent et alertent : « des leishmanioses, affectant l'Homme et les animaux, risqueraient de se multiplier dont la leishmaniose viscérale (mortelle si non traitée), déjà présente dans les Alpes-Maritimes, autour de Marseille et dans les Cévennes… La leishmaniose cutanée, présente dans la région méditerranéenne, plus bénigne, pourrait aussi s'étendre ». L'ampleur des changements climatiques, de leurs causes et de leur impact possible sur la géographie de la France à l'horizon 2005, 2050 et 2100.

Améliorer les dispositifs de surveillance

La surveillance épidémiologique permettrait de repérer l'apparition ou la réapparition de maladies infectieuses ou vecteurs. Ces alertes déclencheraient des mesures de lutte contre la prolifération des vecteurs sans nuire à l'environnement. Les responsables de santé pourraient alors recommander aux habitants de nettoyer dans leur jardin les récipients contenant l'eau stagnante favorable à la reproduction des vecteurs, et d'introduire des poissons qui mangent les larves des vecteurs dans les réserves d'eau ; et aux communes le traitement insecticide des égouts. Cependant, cette méthode utilisée à New-York face au virus West Nile, ne s'est pas montré très concluante. En effet la population de moustiques vecteurs n'a pas été éradiquée, mais l'insecticide vaporisé en ville et dans les égouts, le Malathion, a progressé jusqu'à la mer et la pollution qui en a résulté a tué des milliers de homards, grave préjudice à la biodiversité et aux pêcheurs. Ces plans de surveillance s'avèrent alors dans certains cas inefficaces.

On devrait aussi tenter de prévoir le moment où les conditions climatiques liées aux contraintes locales risquent de déclencher des maladies infectieuses, ceci pourrait permettre de devancer les épidémies qui touchent à la fois les animaux et l'Homme.

On pourrait s'attacher au réchauffement de la planète. En effet les activités humaines qui contribuent à l'augmentation de température ou qui amplifie des effets doivent être restreintes. Des sources d'énergie plus propres devront être rapidement utilisées, à la fois dans le monde industriel consommateur d'énergie et dans les nations en développement, dont on ne peut attendre qu'elles réduisent leur consommation. Procurer des installations sanitaires, des logements, des réfrigérateurs et des cuisinières utilise de l'énergie tout autant que le pompage et la purification de l'eau de mer pour l'irrigation. Simultanément, les forêts et les marécages devront être restaurés, pour absorber le dioxyde de carbone et les eaux des inondations, et pour filtrer les éléments de contamination avant que l'eau n'atteigne les réserves.

ENQUETE DESCRIPTIVE SUR LES CAS DE LEISHMANIOSE CANINE

RENCONTRES CHEZ LES VETERINAIRES DE MEURTHE ET MOSELLE ET DES VOSGES

La leishmaniose canine est un problème important de santé animale dans tout le bassin méditerranéen tant par sa fréquence que par la gravité des symptômes dans les formes cliniques.

Depuis quelques années, on constate une augmentation du nombre de cas, notamment dans des départements où la maladie n'existait pas à l'état enzootique, mais qu'en est-il dans les régions du Nord telles la Meurthe et Moselle et les Vosges ?

Questionnaire et zone d'étude

L'étude porte sur les départements de Meurthe et Moselle et des Vosges et a été réalisée courant 2008 et début 2009 (date d'envoi des questionnaires).

Ci-dessous le questionnaire adressé aux vétérinaires :

QUESTIONNAIRE LEISHMANIOSE CANINE

Identification du cabinet vétérinaire : (facultatif)
Nom du cabinet
Adresse
Code postal
Ville

Quelle est votre activité dominante :
Citadine
Rurale
Mixte

Cas de leishmaniose
En 2007 2008, combien de cas avez-vous vus en consultation ?
Combien de ces cas avez-vous traités ?
D'après ce vous observez est ce que le nombre de cas de leishmaniose canine a augmenté ces dernières années ? Si oui à quoi l'attribuez vous ?

Quels sont les symptômes que vous avez observés :
Au niveau de l'état général : amaigrissement
amyotrophie
léthargie
moins joueur
triste
anémie
hyperthermie
Au niveau dermatologie : alopécie diffuse (++ aux points de frottements)
furfurs
squames
croûtes
hyperkératose
ulcères aux extrémités des oreilles
ulcères cutanés
nodules cutanés superficiels
nodules sous-cutanés
onychogriffose

Au niveau ophtalmologique : dépilation en lunettes
conjonctivite muco-purulente
oedème conjonctivite (chémosis)
nodule sur la conjonctive
kératite
uvéite
Au niveau buccal : érosions buccales
gingivales
linguales
Au niveau squelettique : arthrites, synovites
douleurs diffuses du train postérieur
ostéolyse
ostéoprolifération
Au niveau digestif : vomissement
diarrhée
Divers : orchite
hypertrophie des ganglions superficiels, de la rate, du foie
épistaxis

Diagnostic
Confirmez vous systématiquement votre diagnostic par un examen de laboratoire ?
Quels examens demandez vous ? Quels paramètres regardez-vous ?
Anémie
Insuffisance rénale chronique
Sérologie ELISA
PCR
Visualisation directe MGG
Faites vous appel aux examens : ponction médullaire
ponction ganglionnaire
frottis

Faites vous un diagnostic différentiel avec : ehrlichiose
hépatozoonose
piroplamose
néosporose
Lorsque vous avez recours au laboratoire, faites-vous appel : aux techniques de visualisation directe
aux techniques indirectes (sérologie)
Pour le diagnostic épidémiologique tenez vous compte : du mode de vie de l'animal (int, ext)
du lieu de vie de l'animal (zone géographique)
de l'âge de l'animal

Traitement
Dans quels cas traitez vous : symptômes seuls
symptômes + environnement
symptômes + test positif
test positif seul
en prévention
Dans quels cas ne traitez vous pas ? Pour quelles raisons ?
Quel protocole utilisez vous et dans quel cas ? Précisez le produit, la quantité, la durée du traitement
Utilisez vous des paramètres de suivi de l'efficacité du traitement ? Si oui lesquelles ?
Sur quels critères arrêtez vous le traitement ?

Campagne d'information
Avez-vous participé à la campagne d'information (affiches, brochures) qui s'est déroulée début mars 2008 sur la leishmaniose ? Si non pourquoi ?
Avez-vous été au courant de la campagne radio sur RMC pour sensibiliser les auditeurs sur cette maladie ?

Population

La population enquêtée est constituée en totalité des vétérinaires libéraux qu'il s'agisse de vétérinaires à activité rurale, citadine ou mixte.

L'enquête

Lors de cette enquête, le questionnaire a été adressé soit par voie postale, soit par courriel ou par téléphone.
Il comporte cinq thèmes principaux :
- identification du cabinet
- symptômes observés
- diagnostic
- traitement
- campagne d'information

Résultats

Sur 35 questionnaires adressés, 24 vétérinaires ont répondu à l'enquête. Le taux de réponse est alors de 67 %.
Nous avons recensé 25 % de vétérinaires citadins, 17 % de vétérinaires ruraux et 58 % de vétérinaires mixtes.

20 praticiens déclarent n'avoir eu aucun cas contre 3 déclarent avoir eu un cas de leishmaniose en 2007-2008. Un autre praticien a eu 2 cas de leishmaniose en 2007-2008.
2 praticiens ont recensé un cas de Leishmaniose dans les années 70.
9 praticiens ont ajouté qu' « il n'y avait pas de cas de leishmaniose canine dans l'Est de la France et c'était une anthropozoonose que l'on trouve en région méditerranéenne ».
Sur les 24 vétérinaires qui ont répondu aux questions :
Avez-vous participé à la campagne d'information début mars 2008 sur la leishmaniose ?
6 réponses positives ont été recensées.
Avez-vous été au courant de la campagne radio sur RMC ?
3 réponses positives ont été recensées.

Dans les 5 cas rencontrés, quatre ont été diagnostiqués en Meurthe et Moselle (2 cas à Jarville la Malgrange dans la même clinique vétérinaire), un cas fut découvert à Villers les Nancy un autre cas à Saint Max et le dernier cas fut découvert dans les Vosges (Châtenois).
Les symptômes observés étaient :

- Au niveau de l'état général : amyotrophie, animal triste, amaigrissement, anémie, hyperthermie, léthargie.

- Au niveau dermatologique : squames, hyperkératose, onychogriffose, kératite, adénopathie, furfurs, ulcères cutanés et ulcères aux extrémités des oreilles.

- Au niveau ophtalmologique : conjonctivite muco-purulente, uvéite.

On peut également observer une hypertrophie des ganglions superficiels, de la rate et du foie, des douleurs diffuses du train postérieur.

Le diagnostic a été fait dans un cas par une sérologie (positif à 1/320), par une PCR pour deux cas, un cas a combiné la sérologie et la PCR, un autre a combiné la PCR avec la visualisation directe MGG (frottis).

Deux vétérinaires sur les quatre ont réalisé un diagnostic différentiel avec l'ehrlichiose.
Il a été tenu compte pour le diagnostic du lieu de vie de l'animal pour les 5 chiens. En effet ils étaient de retour de vacances : destination l'Espagne et le sud de la France.
Le traitement a été entrepris suite aux symptômes et au test positif réalisé. Il fut utilisé du Glucantime® et de l'allopurinol (1mois de traitement) pour un vétérinaire, un autre a utilisé Glucantime® 400 mg/jour associé à Marbocyl® pendant 6 semaines.
Les paramètres qui ont permis le suivi de l'efficacité du traitement sont la sérologie négative et l'amélioration des pics observés lors de l'électrophorèse des protéines.
Un vétérinaire a précisé qu'il ne traitait pas si l'animal avait une séropositivité sans symptômes.
Les critères sur lesquels les vétérinaires ont arrêté le traitement sont la rémission clinique et l'amélioration des pics de l'électrophorèse des protéines.

Conclusion sur cette enquête

Cette enquête mène à penser à plusieurs faits et à émettre plusieurs hypothèses :

- Peu de chiens partent vers le pourtour méditerranéen.

- Un certain nombre de chiens y partent mais ne sont pas contaminés ou ne révèlent pas la maladie (porteur sain).

- Les chiens partant sur le bassin méditerranéen sont de plus en plus protégés : port de colliers antiparasitaires, chiens traités par des spot-on…

A noter que les chiens déclarés atteints de leishmaniose revenaient de vacances nous ne pouvons montrer actuellement une évolution de l'aire de répartition de la maladie à travers ce questionnaire.

CONCLUSION

La leishmaniose canine est une zoonose en pleine expansion. D'abord parce qu'on la cherche et ce, avec des moyens de plus en plus performants (PCR entre autres), et aussi parce que le vecteur s'étend et que le chien voyage. De plus, on note aussi une extension du nombre d'espèces chez lesquelles le diagnostic est fait : chat, cheval, furet…

En France, les phlébotomes gagnent le Nord (Lyon, Limoges). Les résultats auprès des vétérinaires interrogés ont montré que ceux-ci se sentent concernés par la leishmaniose (67 % des réponses), et ce indépendamment du fait qu'ils appartiennent ou non à la zone endémique.

Sur le plan clinique, les principaux symptômes sont d'ordres généraux (amaigrissement, abattement, hyperthermie, anémie). On peut noter l'apparition très fréquentes de lésions cutanéomuqueuses : dépilation, hypopigmentation, chancre d'inoculation, hyperkératose, onychogriffoses, adénopathies, le squamosis et l'amaigrissement ce qui montre que la maladie se diagnostique ou s'exprime dans la majorité des cas sous ces aspects.

Actuellement la prophylaxie se résume à prévenir les piqûres d'insectes avec l'utilisation d'insecticides répulsifs, dont les pyréthroïdes, qui présentent les meilleurs critères.

Sachant qu'en moyenne une personne sur deux entrant dans une officine possède un animal de compagnie, le pharmacien a un rôle à jouer en terme d'information et de prévention. Informer le client des éventuelles parasitoses que son chien peut avoir et les méthodes de prophylaxie qu'il existe en expliquant le rôle de chacune d'elles : c'est le devoir d'information de tout pharmacien.

On peut espérer le succès prochain d'une vaccination antileishmanienne. Il est urgent de prendre conscience de la diffusion de cette anthropozoonose qui pourrait s'étendre à toute la France, sans oublier qu'il y a toujours une possibilité même infime de passage chez l'Homme.

De nos jours, on se pose de plus en plus la question de savoir si un autre arthropode que le phlébotome ne pourrait pas être également vecteur. Cela expliquerait la transmission entre chiens dans des régions où il n'y a pas de phlébotomes. Du fait de la fréquence de

l’infestation des chiens par les puces et de la facilité de l’insecte à passer d’un animal à un autre, on peut se demander si les puces ne seraient pas à l’origine de la transmission de leishmanies.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALVAR EZQUERRA. Las leishmaniosis : de la biologica al control. 1997, Amsterdam.

2. AMARA A, ABDALLAH H, JEMLI M.H, REJEB A. Les manifestations oculaires chez les chiens leishmaniens. *Point Vét*, 2003, p50-55.

3. ANNO'FEL 96-97. *Collection Référence, Saint Maurn, Parasitologie Mycologie, Leishmanioses*, 1996, p212-219.

4. ARVENS T. Recrudescence de la leishmaniose. *Revue L'agriculteur,* 2006, n°0070.

5. ASHFORD RW. The leishmaniosos : de la biologica al control. *Elsevier Ed*, 1997, Amsterdam.

6. ASHFORD RW, DESJEUX P. *Today*, n°8, p104-105.

7. B W. Les puces peuvent-elles transmettre la leishmaniose canine ? *La dépêche vétérinaire,* 2009.

8. BANETH G. Les limites thérapeutiques. *School of Veterinary Medicine,* Edition spéciale, p103-109.

9. BANETH G, JAFFZ CC. Canine viscéral leishmaniosis in Israël : an overwiew of an emerging disease with reference to wild canids and human infection. 1997, *Hoesch Roussel Vet*, p44-49.

10. BEN SALAH A, SMAOUI H, MBARKI L, ANDERSON M, BEN ISAIL R. Développement d'un modèle mathématique de la dynamique de la leishmaniose canine. 1994, p13-17.

11. BENIKHLEF R, HARRAT Z, TOUDJINE M, DJERBOUTH A, BENDALI-BRAHAM S, BELKAID M. Présence de leishmaniose infantum MON-24 chez le chien. *Revue médecine tropicale*, 2004, n°64, p381-383.

12. BERRAHAL F., MARY C, ROZE M. Canine leishmaniosis : identification of asymptomatic carriers by polymerase chain reaction and immunoblotting. 1996, *Am. J. Trop. Med. Hyg*, p273-277.

13. BITEAU F. COROLLER. Extension des maladies animales vectorielles en relation avec les changements globaux. *Revue Proceeding Symposium,* 2007, n°10, Maladies vectorielles canines : un sujet d'actualité et d'avenir…, p6-8.

14. BOURDEAU P. Actualités épidémiologiques des maladies vectorielles canines en France. *Revue Proceeding Symposium,* 2007, n°10 avril, Maladies vectorielles canines : un sujet d'actualité et d'avenir…, p3-5.

15. BOURDEAU P. Elements pratiques du diagnostic de la leishmaniose canine. *Point Vét*, 1983, n°15, p43-50.

16. BOURDOISEAU G. Actualités dans le traitement de la leishmaniose canine. 2002.

17. BOURDOISEAU G. La leishmaniose canine à Leishmania infantum. *Thèse Dr Vétérinaire*, 1983.

18. BOUVRESSE A. La leishmaniose canine. *La semaine vétérinaire,* 2005, n°1179.

19. CASSIER P, BRUGEROLLE G, RAIBAUT A. Le parasitisme : un équilibre dynamique. *ed : Masson*, Paris, p121.

20. CATHELAND S. Leishmaniose : une zoonose en pleine extension. *La dépêche vétérinaire,* 2005, n°865.

21. CHAMARD V. Un dépistage de la leishmaniose est organisé dans le sud de la France. *La Semaine vétérinaire,* 2009, n°1350, p20.

22. COLIN M. Les maladies transmises au chien par les insectes se développent. *La Semaine Vétérinaire,* 2008, supplément mensuel n°1311.

23. COMELADE M. De l'entomologie à la médecine : la leishmaniose dans le département des Pyrénées-orientales.

24. COULIBALY E. Diagnostiques et thérapeutiques de la leishmaniose par les vétérinaires praticiens, 2002.

25. COULIBALY E, HEINIS V, CAMPOS C, OZON C, BOURDOISEAU G, HAAS P, MARTY P. Enquête descriptive sur la leishmaniose canine dans le sud de la France en 2000. *Revue Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 2004, N°4 Tome 39, p35-40.

26. COUTINHO MT, LINARDI PM. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals ? *Vet Parasitol*, 2007, p320-325.

27. DE-CLAVIERE F. Place et intérêt de l'électrophèse des protéines dans la gestion des cas de diarrhée chronique chez le chien. *Thèse de Doctarat vétérinaire*, Université Claude Bernard-Lyon I, 2008, 125p.

28. DEDET J-P. L'infestation humaine à leishmania infantum dans le sud de la France : modalités cliniques et épidémiologiques. *Revue Proceeding Symposium*, N°10 avril, Maladies vectorielles canines : un sujet d'actualité et d'avenir, 2007.

29. DEDET J-P. Les Leishmanioses. Paris, *Ellipses*, 1999, 253p.

30. DENEROLLE P. Canine Leishmaniosis : diagnostic difficulties and therapy 125 cases. *Pratiques Médicales et Chirurgicales de l'Animal de Compagnie*, 1996, n°31, p137-145.

31. DENEROLLE P. Traitement de la leishmaniose canine. *Médecine et armée*, 1994, n°22, p67-68.

32. DEREURE J. Place du chien dans les complexes pathogènes leishmaniens des pays du pourtour méditerranéen et du Moyen-Orient. 1993, *Thèse université Montpellier médecine*.

33. DEREURE J, PRATLONG F, DEDET J-P. Géographical distribution and the identification of parasites causing canine leihmaniasis in the mediterrranean basin. *Laboratoire d'écologie médicale et de pathologie parasitaire*, 1999, Montpellier, International Canine Leishmaniosis Forum, Barcelona Spain.

34. DIETZE R. Diagnosis of canine visceral leishmaniosis with a dot-enzyme-linked immunosorbent essay. *An. J. trop. Med. Hyg*, 1995, p40-42.

35. DRAUNET C. 400 000 chiens en Languedoc-Roussillon, tous menacés par la leishmaniose ! *communiqué* du 1er mars 2007.

36. DUMON H. Zoonoses. *Monographie du laboratoire Bayer, N°3, Leishmaniose viscérale méditerranéenne*, 1999.

37. DURPOIX P. Etude épidémiologie de la leishmaniose canine dans le sud de la France : techniques diagnostiques, prophylaxie et définition de la zone d'enzootie, et influence des facteurs environnementaux. *Ecole vétérinaire de Lyon*, 2008, 125p.

38. EPSTEIN P. Oui, le réchauffement de la planète est dangereux. 2000, *Pour la science*, n°276, p80-88.

39. FRANC M. Leishmaniose canine. *Encyclopédie vétérinaire*, 1995, Paris, Parsitologie.

40. GIRAUD P, RANQUE J, CABASSU H. Epidémiologie de la leishmaniose viscérale humaine méditerranéenne, en particulier dans ses rapports avec la Leishmaniose canine. *Rev. Path. Comp. Hyg. Gén*, 1950, p282-300.

41. GOURION V. Contribution à l'étude de la leishmaniose canine dans le sud-est de la France. 1990, *Doctorat d'Université de la Méditerranée Aix-Marseille II*.

42. GRATZ G. The vector borne human infection of Europ, their distribution and burden on public health, *World Health Organization*, 2004, p27-29.

43. GROULADE P. Interêt de l'electrophorèse des protéines sériques dans le bilan et le suivi au cours de la leishmaniose canine. *Pratiques Médicales et Chirurgicales de l'Animal de Compagnie*, n°5, p93-101.

44. GROULADE P, BOURBEAU P. Moyens pratiques de mise en évidence des leishmanies. *Pratiques Médicales et Chirurgicales de l'Animal de Compagnie*, 1988, n°5, p73-79.

45. GUERIN A. Spécial réchauffement climatique : la leishmaniose est en forte progression. *Journal Scalinews*, 2008.

46. HALLOIN E. Etude épidémiologie de la symptomatologie de la leishmaniose canine dans le sud de la France et de l'influence des facteurs environnementaux. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*, Ecole vétérinaire de Lyon, 2008, 130p.

47. HANDMAN E. Leishmania virulence : it's a knock out ! *Trends Parasitol*, 2001, p60.

48. JEANBLANC A. Leishmaniose, du chien à l'homme. *Le Point*, 2008.

49. KILLICK-KENDRICK R. Collier scalibor exclusif 5 mois de protection contre la leishmaniose. *Journal Scalinews*, 2008.

50. LANOTHE J. Essai de traitement de la leishmaniose canine par l'amphotéricine B 39 cas. *Pratiques Médicales et Chirurgicales de l'Animal de Compagnie*, 1997, p133-141.

51. LANOTHE J. Traitement de la leishmaniose par l'amphotéricine B. *Compte-rendus des 10èmes journées annuelles du GEDAC*, 1995.

52. LANOTHE J. Traitement de la leishmaniose canine de A (Amphotéricine B) à Z (Zyloric). International Canine Leishmaniosis, *Forum*, Barcelona Spain.

53. LANOTHE J, GAUDRAY CH, ZARKA P. Diagnostic de la leishmaniose canine. *Revue Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 2004, N°4 Tome 39, p41-46.

54. LANOTHE J, RIOUX JA, CROSET H and al. Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. IX les méthodes d'échantillonage dans le dépistage et l'analyse de l'enzootie canine. *Ann. Parasitol*, 1978, p33-45.

55. LAUMONNIER M. Diagnostic biologique de la leishmaniose. *Proceedings du Congré Annuel NVSPA*, 1993, Paris, p173-178.

56. LEMESRE J-L. Mise au point d'un vaccin contre la leishmaniose. *Pathogénie des Trypanosomatidés*, vidéo consultée sur www.canal.ird.fr, 2008.

57. LEMESRE J-L. Vaccin en développement Sciences au sud. 2005, n°32, 11p.

58. LIVERPOOL SCHOOL OF TROPICAL MEDICINE. Adresse URL : http://pcwww.liv.ac.uk/leishmania/life_cycle_habitats.htm.

59. LOURY R, GUILLAUME M. Leishmaniose viscérale : réussite d'un essai vaccinal sur des chiens sur le site www.ird.fr/fr/actualités/fiches/2005/fiches/2005/fiche226.htm, 2008.

60. LUSSOT D. Résultats préliminaires d'étude terrain Scalibor. 2002, Edition spéciale publi-info.

61. MAAZON R. and al. Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. Contribution à l'analyse chimiotaxonomique des parasites de la leishmaniose viscérale méditerranéenne. A propos de 55 souches viscérales en Cévennes, Côte d'Azur, Corse et Tunisie. *Annales de parasitologie humaine et compararée*, p131-146.

62. MARTY P. and al. Use of the leishmanin skin test and western blot analysis for epidemiological studies in a visceral leishmniosis area : experience in a highly endemic focus in Alpes Maritimes. *Trans. R. Trop. Med. Hyg*, p658-659.

63. MAZELET L. La leishmaniose canine dans le bassin méditerranéen français. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*, Université Pierre et Marie Curie, 2004, 32p.

64. MENCKE N. Prévention de la leishmaniose canine au sein d'une région endémique : résultats d'une étude de terrain sur la combinaison d'imidaclopride / perméthrine en spot-on dans le sud de l'Italie. *Revue Proceeding Symposium,* N°10 avril, Maladies vectorielles canines : un sujet d'actualité et d'avenir…, 2007.

65. NASKIDACHVILI L. L'insuffisance rénale chez le chien leishmanien. *Société de pathologie humaine et animale comparée*, 1986, Lyon, Edition Fondation Marcel Mérieux.

66. NASKIDACHVILI L. La pathologie rénale chez le chien leishmanien. *Pratiques Médicales et Chirurgicales de l'Animal de Compagnie*, 1988, p43-47.

67. PAPIERO G. "Diagnostic biologique de la Leishmaniose canine". *Nouveau Praticien Vétérinaire*, 2002, p65-68.

68. PASSANTINO A. Considérations médico-légales sur la leishmaniose canine en Italie : aperçu d'une maladie émergente liée à l'achat et à la vente de chiens. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, 2006, p1116-1117.

69. PIN D. Dermatologie ENVL, *site Ecole Nationale Vétérinaire Lyon*.

70. RIOUX J.A, GOLVAIN Y.J, CROSET H., TOUR S., HOUIN R. ABONNENCE. Epidémiologie des leishmanioses dans le midi de la France, 1969, *In : Ellipses, DEDET J-P, Les leishmanioses*, p133.

71. RIVIERE D. LANORE. Suspicion de leishmaniose en zone indemne. *Revue L'essentiel l'actualité vétérinaire autrement*, 2007, n°76, p18-22.

72. RODHAIN F, PEREZ C. Les phlébotomes : systématique, biologie, importance médicale. *In : Précis d'entomologie médicale et vétérinaire*, 1985, Maloine, p157-175.

73. RODHAIN F, PEREZ C. *Précis d'entomologie médicale et vétérinaire*. 1985, Paris, p160-165.

74. ROUGIER S, VOULDOUKIS I, WOEHRLE F, BOISRAME B. Détermination de la durée d'administration de la marbofloxacine en comprimés dans le traitement de la leishmaniose canine : *étude clinique pilote*, 2006.

75. ROY.G. *Annuaire vétérinaire.* 77e édition, 2005, 1607p.

76. ROZE M. Valeur de l'acide tolfénamique dans le traitement des uvéites leishmaniennes.

77. SASSOT O. La leishmaniose n'est plus cantonnée au sud ! *article* sur www.portail-veterinaire.com, 2008.

78. SMAOUI H, MBARKI L, ANDERSON M, BEN ISAIL R. Développement d'un modèle mathématique de la dynamique de la leishmaniose canine. 1994, p13-17.

79. VETERINARY PARASITOLOGY. Il existe une transmission vénérienne de la leishmaniose. 2009, Vol 160, n°127, 55-59p.

80. WEISS JB. DNA Probes and PCR for diagnosis of parasitic infections. *Clin. Microbiol*, 1995, n°8, p113-30.

81. ZAHRA A, COLLIGNON C, GUENEGO L, GAUTIER R, MADELENAT A. Polyarthrite associée à une leishmaniose chez un jeune chien. *Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie*, 2009, Tome 44, n°1, p27-34.

82. BVT Diagnostic de la leishmaniose canine Speed® Leish http://www.bvt.fr/francais/speedleish.htm, 2008.

83. Les leishmanioses. http://www.pasteur.fr/ip/easysite/go/03b-00000j-0hb/presse/fiches-sur-les-maladies-infectieuses/leishmanioses, 2008.

84. La leishmaniose sur le site www.le-naturel.com/leishmania.htm, 2008.

85. Leishmania infantum. http://www2.vet-lyon.fr/etu/dermato/maladies/leish_mala.htm, 2009