



HAL
open science

L'allopurinol dans la leishmaniose canine

Sékolène Diaha

► **To cite this version:**

Sékolène Diaha. L'allopurinol dans la leishmaniose canine. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01412193

HAL Id: dumas-01412193

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01412193>

Submitted on 8 Dec 2016

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.

UNIVERSITE DE ROUEN

UFR DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 2015-2016

N°

THESE

**pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN
PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement le 30 mai 2016

par

Diaha Ségolène

Né(e) le 02/03/1990

à Paris (75)

L'allopurinol dans la leishmaniose canine

Président du jury : FAVENNEC Loïc, *Maître de conférences*

Membres du jury : LARANT Jean-Christophe, *pharmacien
(titulaire)*

AUBERT David, *pharmacien*

LE GOFF Laetitia, *enseignant*

Remerciements

Monsieur le Professeur Loïc Favennec,

Maitre de conférences

Professeur de la Faculté de Médecine et Pharmacie de Rouen

Laboratoire de Parasitologie au CHU

Qui me fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse

Et qui m'a beaucoup aidé pour la rédaction.

Hommages respectueux.

A Monsieur Jean-Christophe Larant

Pharmacien titulaire de la pharmacie de Bizy à Vernon (27)

Qui me fait l'honneur d'accepter d'être dans le jury.

Qui m'a beaucoup appris tout au long de mes années études

Et qui a toujours été à l'écoute et arrangeant

Mes sincères remerciements

A Monsieur Aubert David

Docteur en pharmacie à la pharmacie de Bizy (27)

Qui m'a permis et aider à trouver un sujet dans le domaine qui me tenait à cœur

Et qui m'accompagné dans son élaboration et sa rédaction

Mes sincères remerciements

pour ta patience et tes connaissances

Salutations distinguées

A ma Famille,

qui ont toujours été là pour moi dans le but de m'encourager et me motiver. Vous avez toujours su me vider l'esprit pour me permettre de me concentrer sur mes études et ma thèse. Je ne vous remercierai jamais assez pour tout votre soutien.

A Zak,

qui m'a toujours soutenu au cours de ces six années d'études et a su me changer les idées quand j'en avais besoin. Il m'a toujours motivé et aidé à ne jamais baisser les bras dans les bons comme les mauvais moments. Un grand merci pour toute cette force qu'il m'a donné pour aboutir à mes projets.

A mes amis,

qui m'ont toujours encouragé lors de mes années d'études. Ils ont toujours fait en sorte de ne pas me distraire afin que je puisse me concentrer dans les moments où j'avais besoin de quiétude. De plus, ils ont, eux aussi, été une source de motivation pour m'aider à accomplir les objectifs que je m'étais fixée. Je vous en suis très reconnaissante.

A l'équipe de la pharmacie de Bizy

qui m'a aidé à acquérir et renforcer mes connaissances dans le métier que je désire faire le mien. Elle a toujours été de bon conseil et d'une patience sans égale. Chacun d'entre vous avez des qualités professionnelles et humaines qui rendent cette équipe officinale si complète et exceptionnelle. Elle a contribué à m'encadrer et à me donner confiance en moi. Un profond merci.

A Alexia et Nadège

Avec qui j'ai partagé et traversé toutes cette scolarité, leur présence a été d'un soutien sans précédent. Toutes ces années d'études à leur coté me manqueront et me laisserons de merveilleux souvenirs. Mille mercis

Mise en garde

« L'université de Rouen et l'UFR de Médecine et de Pharmacie de Rouen n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans cette thèse. Ces opinions sont propres à leurs auteurs »

ANNEE UNIVERSITAIRE 2015 - 2016
U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**
Professeur Benoit VEBER
Professeur Pascal JOLY
Professeur Stéphane MARRET

I – MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Jean-Paul BESSOU	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise BEURET-BLANQUART (<i>surnombre</i>)	HCN	Commission E.P.P. D.P.C. Pôle Qualité
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Pierre CZERNICHOW	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mme Danièle DEHESDIN (<i>surnombre</i>)	HCN	Oto-rhino-laryngologie

Mr Frédéric DI FIORE	CB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
Mr Philippe DUCROTTE	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel GODIN (<i>surnombre</i>)	HB	Néphrologie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Philippe GRISE (<i>surnombre</i>)	HCN	Urologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
Mr Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato - Vénérologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Jean-François MUIR	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophtalmologie
Mr Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire

Me Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace ROMAN	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatogastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Réanimation Médicale
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLEZ	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre VANNIER	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	HB	Service Santé Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
Mr Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Physiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Stéphanie DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mme Rachel MARION-LETELLIER	UFR	Physiologie
Mr Thomas MOUREZ	HCN	Virologie
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Christine RONDANINO	UFR	Physiologie de la Reproduction
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique

Diaha Ségolène

Mme Anne-Claire **TOBENAS-
DUJARDIN**

HCN

Anatomie

PROFESSEUR AGREGÉ OU CERTIFIÉ

Mme Dominique **LANIEZ**
Mr Thierry **WABLE**

UFR
UFR

Anglais
Communication

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
Mr Roland CAPRON	(PU-PH) Biophysique
Mr Jean COSTENTIN	(Professeur émérite) Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC	(PU-PH) Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE	(Professeur émérite) Toxicologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Isabelle LEROUX - NICOLLET	Physiologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON	(PU-PH) Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Jérémy BELLIEN	Pharmacologie
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER	Statistiques
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mr Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Dominique DUTERTE- BOUCHER	Pharmacologie
Mr Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Gilles GARGALA	(MCU-PH) Parasitologie

Diaha Ségolène

Mme Najla GHARBI	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Hervé HUE	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mr Jean-François HOUIVET	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
----------------------------	---------

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mme Sandrine DAHYOT	Bactériologie
----------------------------	---------------

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mr Souleymane ABDOUL-AZIZE	Biochimie
Mme Hanane GASMI	Galénique
Mme Caroline LAUGEL	Chimie organique
Mr Romy RAZAKANDRAINIBE	Parasitologie

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Roland CAPRON	Biophysique
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Rémi VARIN	Pharmacie clinique
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

III - MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR

Mr Jean-Loup **HERMIL** UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale
Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

Mr Pascal BOULET	UFR	Médecine générale
Mme Elisabeth MAUVIARD	UFR	Médecine générale
Mme Yveline SEVRIN	UFR	Médecine générale
Mme Marie Thérèse THUEUX	UFR	Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Serguei FETISSOV (med)	Physiologie (ADEN)
Mr Paul MULDER (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su RUAN (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN (med)	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline GAILDRAT (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (med)	Chirurgie Expérimentale
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle TOURNIER (med)	Biochimie (UMR 1079)

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

*HCN - Hôpital Charles Nicolle HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME
CB - Centre Henri Becquerel CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray
CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation SJ - Saint Julien Rouen*

Table des matières

1	Introduction.....	19
2	Leishmaniose canine.....	21
2.1	Les principaux protagonistes.....	22
2.1.1	Agents pathogènes	22
2.1.2	Le vecteur	23
	2.1.2.1 <i>Taxonomie</i>	23
	2.1.2.2 <i>Biologie</i>	25
2.1.3	Les réservoirs :.....	29
2.2	Classification des leishmanioses	31
2.3	Epidémiologie	32
2.3.1	Les espèces infectées par les leishmanies :	32
2.3.2	Répartition.....	35
	2.3.2.1 <i>Mondiale</i>	35
	2.3.2.2 <i>En France</i>	35
2.4	Cycle.....	38
2.5	Mécanisme d'action :	40
2.6	Symptômes	42
2.6.1	Symptomatologie générale.....	43
2.6.2	Symptomatologie cutanée.....	44
2.6.3	Symptomatologie oculaire	45

2.6.4	Symptomatologie rénale.....	46
2.6.5	Autres signes cliniques.....	46
2.6.6	Anomalies paracliniques	47
2.7	Le diagnostic	48
2.7.1	Prédisposition.....	48
2.7.2	Test rapide de diagnostic	49
2.7.3	Diagnostic au laboratoire.....	50
	<i>2.7.3.1 Méthode non spécifique et de présomption de la leishmaniose</i>	<i>50</i>
	<i>2.7.3.2 Méthode de certitude.....</i>	<i>52</i>
2.7.4	En pratique.....	56
	<i>2.7.4.1 Chez les canins, ayant des signes cliniques et/ou para-cliniques accordables :.....</i>	<i>57</i>
	<i>2.7.4.2 Chez les canins, cliniquement sains :</i>	<i>57</i>
2.8	Traitements	58
2.8.1	Traitement Curatif.....	60
	<i>2.8.1.1 Les stibiés pentavalents</i>	<i>60</i>
	<i>2.8.1.2 L'amphotéricine B.....</i>	<i>63</i>
	<i>2.8.1.3 Miltéfosine</i>	<i>65</i>
	<i>2.8.1.4 Le Marbofloxacin</i>	<i>66</i>
	<i>2.8.1.5 Pentamidine</i>	<i>67</i>
	<i>2.8.1.6 Nouvelles pistes</i>	<i>67</i>
2.8.2	Surveillance et pronostic	68
	<i>2.8.2.1 Chez les canins qui ont déclaré la parasitose :</i>	<i>68</i>
	<i>2.8.2.2 Chez les canins sains n'ayant pas déclaré la parasitose :</i>	<i>68</i>
2.8.3	Traitement Préventif	69
	<i>2.8.3.1 Prophylaxie sanitaire</i>	<i>70</i>

	2.8.3.2 Prophylaxie médicale	70
3	L'allopurinol	76
3.1	Historique.....	76
3.2	Législation et réglementation.....	77
3.3	Molécules chimiques et propriétés physiques	78
3.3.1	Propriétés chimiques.....	78
	3.3.1.1 Généralités.....	78
	3.3.1.2 Synthèse chimique	79
3.3.2	Propriétés physiques.....	84
	3.3.2.1 Solubilité.....	84
	3.3.2.2 Caractères organoleptiques.....	85
	3.3.2.3 Limpidité.....	85
	3.3.2.4 Point de fusion.....	85
	3.3.2.5 Perte à la dessiccation.....	85
	3.3.2.6 Méthodes d'identification	86
	3.3.2.7 Coefficient de partage	88
	3.3.2.8 Stabilité	88
3.4	Formulation galénique	89
3.5	Propriétés.....	89
3.5.1	Pharmacologiques.....	89
	3.5.1.1 Production de l'acide urique	90
	3.5.1.2 Synthèse des purines	91
	3.5.1.3 Biosynthèse des pyrimidines	92
	3.5.1.4 Mécanisme sur le métabolisme du tryptophane.....	92
	3.5.1.5 Action sur des organes en ischémie provoquée	93
	3.5.1.6 Action sur le choc hémorragique	93
	3.5.1.7 Action sur le stockage d'organe.....	94

3.5.1.8	<i>Action antiparasitaire</i>	94
3.5.2	Pharmacocinétiques	94
3.5.2.1	<i>L'absorption</i>	94
3.5.2.2	<i>La distribution</i>	95
3.5.2.3	<i>La métabolisation</i>	96
3.5.2.4	<i>L'Élimination</i>	98
3.6	Indications	99
3.6.1	Les hyperuricémies et hyperuraturies	100
3.6.2	Hyperuricémies primitives et secondaires	100
3.6.2.1	<i>En hématologie</i>	100
3.6.2.2	<i>En cardiologie</i>	101
3.6.2.3	<i>En néphrologie</i>	101
3.6.2.4	<i>Origine iatrogène</i>	101
3.6.3	Indications secondaires	102
3.7	Posologies	104
3.8	Effets indésirables	105
3.9	Contre-indications	107
3.10	Précaution d'emploi	108
3.11	Interactions médicamenteuses	109
3.12	Modalités de conservation	110
3.13	Conseils et Recommandations	110
4	L'allopurinol dans la leishmaniose canine	110
4.1	Mécanisme d'action dans la leishmaniose	111
4.1.1	Explication de la fabrication des nucléotides via la xanthine oxydase et l'hypoxanthine	111

4.1.1.1	<i>La voie principale</i>	112
4.1.1.2	<i>L'autre voie</i>	113
4.1.2	Etudes <i>in vivo</i>	114
4.2	AMM	115
4.3	Efficacité de l'allopurinol dans la leishmaniose canine	115
4.3.1	Comparaison de l'efficacité	116
4.3.1.1	<i>Chez l'homme</i>	116
4.3.1.2	<i>Chez le chien</i>	116
4.3.2	Posologie	117
4.3.3	Effets indésirables	117
4.4	Bénéfice de l'allopurinol en association	117
4.4.1	Analyse de l'association	117
4.4.2	Thérapeutique symptomatique.....	120
4.4.3	Thérapeutique spécifique adoptée	121
4.4.3.1	<i>Recommandation actuelle</i>	121
4.4.3.2	<i>Posologie</i>	121
4.4.3.3	<i>Effets indésirables</i>	121
4.5	Thérapeutiques moins utilisées	121
4.5.1	L'amphotéricines B (Fungizone).....	122
4.5.2	Le miltéfosine	122
4.5.3	Le paramomycine.....	122
4.6	Classification cliniques des chiens et protocoles thérapeutiques 123	
4.6.1	Classification clinique des canins	123
4.6.2	Protocole de traitement recommandé	125

4.6.3	Guide de traitement en fonction du stade clinique	127
4.6.4	Bilan	130
4.7	Suivi et pronostic selon les stades cliniques	131
4.7.1	Chez les canins malades	131
4.7.2	Chez les canins sains.....	133
4.7.3	Autres cas de figures.....	134
4.8	Conseil alimentaire associé au traitement par l'allopurinol dans la leishmaniose canine.....	135
4.8.1	Etude clinique.....	135
4.8.1.1	<i>Méthode utilisée</i>	<i>136</i>
4.8.1.2	<i>Résultats obtenus.....</i>	<i>136</i>
4.8.1.3	<i>Conclusion de l'étude</i>	<i>136</i>
4.8.2	Aliments diététiques sur le marché	137
4.8.2.1	<i>Advance veterinary diets</i>	<i>137</i>
5	Conclusion	141
6	Table des illustrations	143
6.1	Liste des images.....	143
6.2	Liste des photos	143
6.3	Liste des schémas.....	144
6.4	Liste des cartes	145
6.5	Liste des tableaux	146
7	Références bibliographiques :.....	147

1 Introduction

Il y a environ 8 millions de chiens en France, ce chiffre permet de placer la France à la 5^{ème} place au niveau Européen en termes de population canine. Les chiens peuvent être affectés par différentes parasitoses dont la leishmaniose canine. Cette parasitose peut être rencontrée dans 4 continents différents. En France, cette maladie est retrouvée au niveau du pourtour méditerranéen. Cette parasitose est enzootique dans le Sud de l'Europe, avec un taux de séroprévalence jusqu'à 75% dans les populations exposées. Parfois la leishmaniose peut également être transmise à l'homme, c'est la raison pour laquelle on peut la qualifier de zoonose. Le rôle du pharmacien d'officine est très important dans le cas présent, il a pour responsabilité d'apporter des renseignements corrects aux propriétaires de chiens. Il énumère aussi bien les symptômes de la maladie, les techniques pour la diagnostiquer, que les conseils en matière de thérapeutiques et de préventions.

Par ailleurs, l'allopurinol est un médicament utilisé pour traiter la goutte chez l'homme, ce médicament est employé de façon très importante à l'échelle mondiale.

L'objectif de ce travail est de montrer comment un traitement utilisé pour traiter la goutte chez l'humain possède également une efficacité pour soigner la leishmaniose canine.

Ce sujet me touche particulièrement pour plusieurs raisons. Tout d'abord, depuis mon plus jeune âge, j'ai toujours éprouvé beaucoup d'attachement pour les chiens. De plus, depuis la découverte de la parasitologie lors de ma première année de pharmacie à l'université de Rouen grâce à monsieur Favennec, j'ai été immédiatement captivée par cette discipline. Tout cela est probablement lié à l'originalité des cycles, ou encore à l'importance de la prise en charge à l'officine. En effet, j'ai toujours su garder un intérêt particulier pour cette matière.

De surcroît, l'allopurinol est un traitement que je délivre beaucoup en pharmacie et il est primordial de le connaître en tant que pharmacien d'officine.

Ce travail sera divisé en trois grandes parties :

Dans une première partie, nous étudierons les généralités de la leishmaniose canine que ce soit l'épidémiologie en passant par les symptômes, le diagnostic et les différents traitements.

Dans une deuxième partie nous traiterons les différents aspects de l'allopurinol, son mécanisme d'action, ses indications, ses effets indésirables et beaucoup d'autres caractéristiques en n'oubliant pas les conseils d'utilisation.

Enfin, dans une dernière partie nous verrons le rôle intéressant et maintenant primordial de l'utilisation de l'allopurinol dans la leishmaniose canine.

2 Leishmaniose canine

La découverte de la première espèce de *Leishmania* fut décrite pour la première fois par Laveran et Mesnil en 1903 : il s'agissait de *Leishmania infantum*. Depuis, la découverte de nouvelles espèces décrites ne cessent de s'accroître comme *Leishmania Donovanii*, *Leishmania chagasi*, etc.

La répartition endémique de la leishmaniose humaine est constatée dans 88 pays et 4 continents dont l'Afrique, l'Amérique centrale et du sud, l'Asie et l'Europe. En revanche, chez le chien cette maladie est endémique dans le Sud de la France mais également sur le pourtour méditerranéen et en particulier en Corse. Ainsi, on constate depuis quelques années une progression de la maladie vers l'Ouest et le Nord de la France le long de la côte atlantique (des Pyrénées Atlantique jusqu'à la Loire Atlantique) par rapport aux foyers originaux de la maladie dans le Sud-Est (Chamaillé et al, 2010). En effet, les modalités de transmission sont en constante évolution, et elles sont liées aux changements environnementaux, climatiques, économiques et démographiques, qui agissent sur la répartition des pathogènes et de leurs vecteurs. (Houin, 2003 ; Gage et al, 2008 et Rioux et al, 2003).

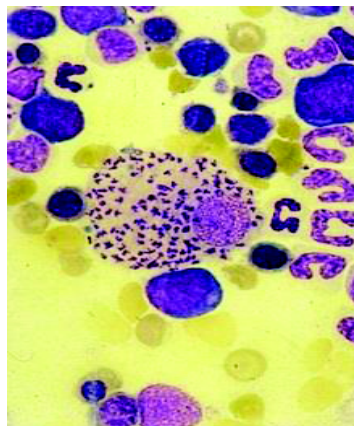
La leishmanie parasite certains leucocytes du système monocytes-macrophages. C'est un protozoaire flagellé de la famille des trypanosomidés et du genre *Leishmania*. Ce parasite est transmis par un moucheron hématophage le phlébotome. On parle ici d'une zoonose qui se transmet d'un vertébré à un autre. Il existe différents types de formes cliniques de leishmaniose chez l'humain: des formes cutanées localisées et des formes viscérales. Cette diversité clinique dépend de l'espèce de *Leishmania* responsable de l'infection ainsi que de la réponse immunitaire de l'hôte infecté. Cependant, chez le chien cette maladie est protéiforme : elle est donc susceptible de prendre différentes formes qui sont le plus souvent graves et mortelles sans prise en charge thérapeutique. (Anofel, 2013)

2.1 Les principaux protagonistes

2.1.1 Agents pathogènes

Les *Leishmania* sont des protozoaires flagellés, qui existent sous 2 formes, l'une à température ambiante et l'autre à 37°C:

La forme amastigote, immobile et intracellulaire dans les monocytes ou macrophages est une forme ovoïde de 2-6 micromètres, renfermant un petit noyau sphérique. Ce stade possède également un kinétoplaste, qui est un réseau d'ADN circulaire contenu dans une mitochondrie, pouvant être associé à un petit flagelle intracellulaire. On retrouve cette forme chez les hôtes vertébrés.



Images 1: Stades amastigotes de leishmanies dans un macrophage, colorés au Giemsa source: école vétérinaire de Lyon

A température ambiante, le parasite existe sous forme extracellulaire. La forme promastigote est allongée de 10-25 micromètres, le kinétoplaste est en avant du noyau et ce stade possède un flagelle libre de grande taille qui lui confère une mobilité. On les retrouve dans l'intestin du phlébotome et dans les milieux de cultures. (Anofel, 2013)

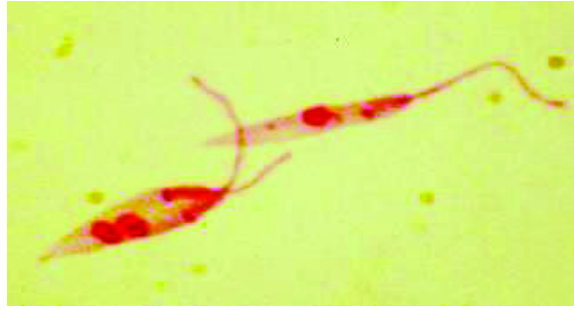


Image 2: Formes promastigotes de leishmanies (source : UMR, 2013 [en ligne])

Ces deux formes se multiplient par division binaire à l'intérieur de la ou des vacuoles parasitophores du cytoplasme des macrophages pour les stades amastigotes. Les parasites sont ensuite libérés par la lyse du macrophage. Ainsi les leishmanies sont phagocytées et évoluent dans d'autres macrophages.

Dans l'intestin du vecteur, ainsi que dans les cultures les amastigotes, deviennent des promastigotes et se multiplient par scissiparité longitudinale. (Anofel, 2013)

2.1.2 Le vecteur

Un bon vecteur pour la transmission de la leishmaniose est défini par certains critères :

- Qu'il y ait cohabitation entre le vecteur, le(s) réservoir(s) et le parasite.
- Que le vecteur se nourrisse sur le ou les hôtes réservoirs.
- Que le vecteur puisse être infecté naturellement par le parasite.
- Qu'il permette au parasite de se développer.
- Qu'il assure la transmission du parasite. (Granier 2013)

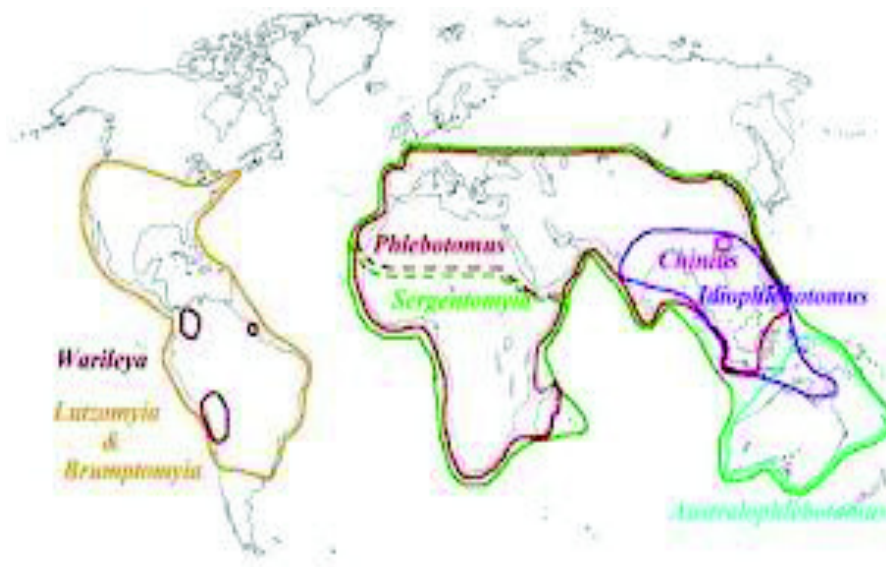
2.1.2.1 Taxonomie

Le phlébotome est un diptère de **sous-ordre** : Nématocères, **famille** : psychodidés et enfin **la sous-famille** des phlébotomes.

On peut identifier les phlébotomes en effectuant un examen morphologique : nervation alaire, des organes génitaux, des spermathèques et de l'armature cibariale. Mais cette technique peut être complétée par des techniques de biologies moléculaires et des analyses d'ADN. On connaît environ 800 espèces et environ 93 sont des vecteurs probables de la leishmaniose.

On différencie plusieurs genres de phlébotomes :

- Phlebotomus : la leishmaniose appartient à ce genre
- Lutzomyia : dont font partis les vecteurs américains de leishmaniose
- Sergentomyia
- Hertigia
- Brumptomyia
- Chinius (granier 2013)



Carte 1 : Répartition des différents genres de phlébotomes dans le monde (source : Université de Reims)

Tableau 1: Caractères généraux des foyers de leishmaniose viscérale dans les différentes régions biogéographiques (d'après J .P Dedet, 1976, Bull. Inst. Pasteur, 74, 421)

régions biogéographiques	foyers	Hôtes vertébrés	Vecteurs
paléarctique	méditerranéen	chien (homme) (carnivores sauvage)	<i>Phlebotomus perniciosus</i> (<i>P.ariasii</i>)
	centrasiatique	carnivores sauvages chien (homme)	<i>P.chinensis</i> (<i>P.kandelakii</i>)
	chinois	chien (homme)	<i>P.chinensis</i>
orientale	indien	homme	<i>P.argentipes</i>
afro tropicale	est-africain	homme (carnivores sauvages) (rongeurs sauvages)	<i>P.orientalis</i> (<i>P.martini</i>)
néo-tropicale	américain (sud et centre)	chien (homme) (carnivores sauvage)	<i>Lutzomyia longipalpis</i>

2.1.2.2 Biologie

2.1.2.2.1 Morphologie aux différents stades

2.1.2.2.1.1 Adulte

Les phlébotomes adultes sont des insectes de très petite taille environ 1 à 4 mm et qui peuvent passer à travers les moustiquaires. Ils sont également de couleurs pâles, très fragiles et velus, ils ont un aspect bossu. De plus, ces insectes ont des antennes avec 16 segments velus. Par ailleurs, ils ont des palpes maxillaires contenant 5 segments et des gros yeux sombres. Enfin, leurs ailes sont lancéolées et velues généralement relevées au repos.



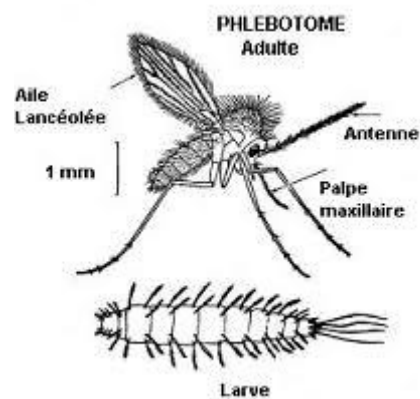
Images 3: phlébotome adulte

2.1.2.2.1.2 Oeuf

Les oeufs des phlébotomes ont une forme allongée et un peu incurvée. La taille des oeufs varie de 300 à 400 micromètres. Par ailleurs, la couleur est tout d'abord blanche puis brune.

2.1.2.2.1.3 Larve

Les larves des phlébotomes sont vermiformes et leur encéphale est au stade 4. Elle mesure environ 8 millimètres. De plus, les pièces buccales sont de types broyeures.



Images 4: évolution du phlébotome à différents stades

2.1.2.2.1.4 Nymphe

Les nymphes des phlébotomes sont constituées d'un céphalothorax et d'un abdomen. Ces dernières mesurent 3 millimètres de long. (Rodhain, 1985)

2.1.2.2.2 Cycle de développement des différents stades

La ponte des oeufs par les femelles se fait une à une dans des endroits qui constituent les gîtes des larves. Cette ponte des oeufs se fait après l'accouplement et le repas sanguin. Selon la proportion du repas sanguin le nombre d'oeuf pondue varie et peut atteindre 200. L'incubation des oeufs varie en fonction de la température et donc de la saison entre 4 et 17 jours. Les larves se nourrissent dans l'habitat puis se transforment en nymphe dans les mêmes gîtes. Le stade Nymphal dure environ 6 à 15 jours. La durée des 4 stades larvaires puis du stade nymphal varie en fonction du climat. De l'éclosion de l'oeuf jusqu'au stade adulte, le cycle semble varier de 20 à 75 jours. (Rodhain, 1985)

2.1.2.2.3 Comportement

Le comportement de ces insectes est corrélé à l'espèce de phlébotome concernée.

Ils ont une activité majoritairement crépusculaire et nocturne par temps calme. Cependant, certaines espèces peuvent tout de même piquer en journée. Seule la femelle est hématophage, c'est elle qui peut transmettre la leishmaniose.

De façon générale, leur piqûre est douloureuse et leur vol est silencieux.

La période d'activité s'étend de mai à octobre dans les zones tempérées toutefois en zone tropicale elle dure toute l'année. Leur activité est fortement liée à la température : en effet ils sont actifs pour des températures supérieures à 18-20°C. Il y a un repos hivernal dans les pays tempérés. Leur mode de vie est également

dépendant du taux d'humidité ainsi que du vent. Leur distance de vol à partir de leur lieu de repos varie entre 200m et plus de 2km. Leur vitesse de vol est inférieure à celle des moustiques, elle est de 1 m/s. Si la vitesse du vent dépasse cette valeur, les phlébotomes sont incapables de voler. Ils errent donc près du sol car la vitesse du vent est plus rapide en altitude. (Granier 2013)

2.1.2.2.4 Habitat

Les oeufs, larves et nymphes ont besoin pour se développer: d'obscurité, de calme et d'humidité. (Granier 2013)

Les gîtes larvaires sont différents selon les espèces : fissures du sol, terriers de micromammifères, nids d'oiseaux, creux d'arbres, anfractuosités de la base des arbres, fentes des murs et du sol des habitations ou des étables...

Tous ces gîtes partagent communément d'être des micro habitats avec des conditions particulièrement constantes. En effet, ce sont tous des lieux abrités des courants d'airs, calmes, sombres et humides.

Les nymphes vivent dans les mêmes gîtes.

Chez les adultes, les conditions optimums de vie sont : la tranquillité des habitats de repos, le calme et la proximité des hôtes vertébrés. Ces conditions sont essentielles au repas sanguins. Il existe des gîtes de pontes qui sont des endroits idéals pour la vie des larves.

Les préférences trophiques des femelles conditionnent les habitats de chaque espèce.

On différencie alors les espèces « domestiques » qui vivent à proximité des habitations humaines, des espèces associées aux rongeurs, des reptiles, etc.

Par exemple :

- *P.papatasi*, avant tout anthropophile, trouvé souvent en Afrique du nord, fréquente les lieux habités par l'homme ou les animaux domestiques. Ils

peuvent par ailleurs piquer également les oiseaux, les poules et les pigeons ainsi que l'homme.

- Alors que, *P.minutus parroti*, dans les régions similaires se nourrissent sur des animaux à sang froid. On les retrouve en quantité dans les maisons délaissées et désertes depuis longtemps, ainsi que dans les lieux habités. (Rodhain,F 1985)

2.1.3 Les réservoirs :

Un réservoir permet à un parasite donné de survivre et un maintien au cours d'une longue période de la population parasitaire dans un foyer donné. En effet, ce n'est pas parce que l'on a été infecté par le parasite que l'on est considéré comme son réservoir. En dehors des gros réservoirs, certaines espèces hôtes sont susceptibles d'être infectées par le parasite et peuvent parfois encourager la propagation du parasite. Ceci est valable pour des réservoirs secondaires dans des lieux qui se situent ailleurs que dans les foyers primaires.

Du fait de la préférence trophique des phlébotomes, seuls les mammifères peuvent être des réservoirs majeurs dans la leishmaniose.

Il existe différents critères pour décrire une espèce réservoir et plus particulièrement dans le cas de la leishmaniose :

- ❖ Afin de donner aux phlébotomes, une source d'aliment considérable, l'espèce réservoir doit être en nombre suffisant dans un foyer donné. Il en est de même pour les espèces au comportement grégaires. Le phlébotome peut piquer de multiples individus sur un temps et une distance relativement courts. La probabilité d'être contaminée à l'approche d'un individu infesté, ou bien même de transmettre le parasite à un tiers qui ne l'est pas, est plus élevée.
- ❖ Un habitat favorable est offert par l'espèce réservoir au phlébotome pour le repos ou pour la ponte. On peut prendre pour exemple les étables ou les terriers.
- ❖ Pour constituer des « réserves de parasites » pendant une longue période et également accroître la possibilité d'être infectées, les réservoirs doivent disposer d'une espérance de vie assez longue.

- ❖ L'espèce réservoir doit pouvoir survivre longtemps à l'infestation et de surcroît pendant les périodes et saisons de non contamination. Pour cela il est nécessaire que l'inoculation ne soit pas trop pathogène pour ce dernier.
- ❖ Pour pouvoir être à la portée du vecteur, il est indispensable que le parasite soit en abondance dans la peau et le sang périphérique.

Par conséquent, le parasite est sérieusement dépendant du vecteur et du réservoir.

Pour que la propagation du parasite se fasse convenablement, il faut réunir un certain nombre de paramètres. La plupart du temps, cette transmission échoue.

La leishmaniose a un caractère zoonotique, ce qui signifie que c'est une maladie ou infestation naturellement transmissible des animaux aux hommes et vice versa. On a pu constater que la leishmaniose viscérale humaine est due à la même espèce de leishmanie et au même zymodème correspondant à un groupe d'individus d'une espèce présentant le même profil enzymatique. La transmission à l'homme se fait, de façon quasi-exclusive, par l'intermédiaire des phlébotomes préalablement infectés à l'occasion d'un repas de sang prit sur un chien infecté : l'espèce canine constitue dans nos régions le réservoir du parasite. (Bourdoiseau, 2000)

On remarque que chez les réservoirs animaux les formes cliniques peuvent se manifester de façons différentes selon les espèces. En effet, il peut y avoir des formes asymptomatiques et d'autres qui peuvent conduire à la mort. Par exemple, *Leishmania infantum* est mortelle chez le chien. Ces signes cliniques peuvent tout à fait être différents chez les hommes.

Le chien qui nous intéresse particulièrement ici, est le principal réservoir de la *Leishmania infantum* (chagasi) et de la *Leishmania peruviana*. Il constitue par ailleurs un hôte accidentel pour un bon nombre d'autres espèces. Il est retrouvé dans beaucoup de foyers urbains, péri-urbains et ruraux et est le plus souvent hautement proche de l'homme duquel il dépend étroitement. La leishmaniose canine induit chez le chien des lésions viscérales et également cutanées. Le chien est alors très infectieux pour le vecteur. (Granier 2013)



Photo 1: chien atteint de leishmaniose canine (source: gslc: gruppo di studio sulla leishmaniosi canina)

2.2 Classification des leishmanioses

Il existe différentes classes de leishmaniose qu'on peut ordonner de la manière suivante :

❖ leishmaniose de l'ancien monde :

- leishmaniose cutanée : *Leishmania Tropica* et *Leishmania Major*
- leishmaniose viscérale : *Leishmania Donovanii* et *Leishmania Infantum*

❖ leishmaniose du nouveau monde :

- leishmaniose cutanée : *Leishmania Brasiliensis* et *Leishmania Mexicana*
- leishmaniose viscérale : *Leishmania Chagasi* (Favennec 2013)

Il existe une trentaine d'espèces de leishmanioses mais seulement une dizaine a été retrouvée chez le chien. *Leishmania infantum* est la principale cause d'infestation à leishmaniose chez le chien. (Solano-Gallego et al, 2009).

2.3 Epidémiologie

2.3.1 Les espèces infectées par les leishmanies :

Chez **l'homme**, il y a une grande fréquence des formes asymptomatiques lorsque le parasite en cause est *Leishmania infantum*. Cependant lorsqu'il y a des formes cliniques elles se traduisent par :

- ❖ Des formes cutanées et cutanéomuqueuses guérissant spontanément mais qui laissent tout de même des cicatrices grossières et ineffaçables. Ces symptômes sont des granulomes dermiques d'aspect papuleux, qui peuvent aller jusqu'à l'ulcération. Ces formes peuvent être soit localisées, soit diffuses, et sont désignées par des noms empruntés au langage des zones dans lesquelles elles sévissent.

Les formes localisées peuvent être nommées **bouton d'orient, Ulcère de Chicleros, Pian-bois, Uta**.

Les formes cutanéomuqueuses peuvent être nommées **Espundia**.

Enfin, les formes diffuses sont causées par *Leishmania major* surtout chez les immunodéprimés. Il y a la dermatose post-*kala-azar*, la leishmaniose cutanée diffuse d'Afrique orientale subsaharienne due à *Leishmania aethiopica*, la leishmaniose cutanée diffuse américaine due à *Leishmania mexicana amazonensis* et enfin *Leishmania colombiensis* qui est la cause de multiples ulcérations cutanées.

- ❖ Des formes viscérales, cela correspondent plutôt à une atteinte générale elles touchent la lignée des phagocytes mononucléés. Elles sont mortelles sans traitement, l'espérance de vie sera alors d'une à deux années. Il y a une émergence des souches résistantes. La leishmaniose viscérale se manifeste plus particulièrement par un syndrome spléno-hépatoadénomégalie, les leishmanioses viscérales font suite à l'inoculation des formes promastigotes des leishmanies. Cependant, elles peuvent aussi être dues à des interventions

thérapeutiques comme des transplantations d'organes (reins, foie, poumons,..) (Euzeby 2008)

Les enfants et les personnes immunodéprimés sont ceux qui risquent le plus d'être touchés. Les causes d'immunodépression sont de plus en plus importantes et diverses. En effet, elles sont soit virales comme avec l'exemple du virus de l'immunodéficience humaine responsable du SIDA, soit iatrogéniques avec l'emploi de corticoïdes et/ou d'immunodépresseurs pour traiter certaines hémopathies, processus néoplasiques, ou encore à la suite d'une greffe. Ces différents types de personnes peuvent déclarer à cause de leur immunodépression une leishmaniose. Aujourd'hui, la leishmaniose viscérale s'est transformée en leishmaniose de l'adulte et pourtant il fut un temps où elle était désignée sous le nom de leishmaniose viscérale infantile. En effet, dans quelques régions méditerranéennes, 75 % des cas concernent l'adulte, 50 à 60 % d'entre eux étant VIH+.

Il est très important de souligner ici une donnée épidémiologique. Il est vrai qu'au sein des toxicomanes le fait d'utiliser des seringues peut être à l'origine de la transmission du virus du VIH mais également aussi de la leishmaniose qui est très abondante dans le sang périphérique des immunodéprimés. La transmission mécanique de leishmanies se fait donc chez l'homme et peut être envisagée entre chiens via des ulcères cutanés et l'homme (en situation pathologique). Un animal étant contaminé par la leishmaniose et vivant au sein d'une famille dont l'un des membres est atteint d'une maladie grave est plus fragile d'un point de vue médical. (Bourdoiseau, 2000)

Chez **le chien**, selon la fonction immunitaire mise en place, les signes cliniques qui se manifestent peuvent être asymptomatiques ou symptomatiques avec des anomalies paracliniques.

En effet, on considère approximativement 90 à 95 % de formes asymptomatiques, pour 5 à 10 % de chiens symptomatiques. Au sein de ces chiens cliniquement sains, un tiers ne sont pas contaminés, et les deux tiers qui restent le sont, 22% ont la capacité de déclarer la parasitose.

Il y a d'autres animaux qui peuvent être infectés par ce parasite. Cependant, leur fonction en tant que réservoirs pour l'homme est insignifiante par rapport à celui du chien.

Par exemple il y a **les chats** (Ozon et al, 1998), et notamment dans les zones de fortes endémies (on a pu constater vingt-quatre cas cliniques de leishmaniose qui ont été recensés en Europe depuis les années quatre-vingt) mais ils paraissent moins sensibles à la maladie que les chiens. Les chats ont une symptomatologie le plus fréquemment cutanée.

Ils peuvent quand même être un réservoir secondaire pour l'homme car ils peuvent transmettre les leishmanies aux phlébotomes. (Gramiccia, 2011 ; Da Silva et al, 2010 et Maroli et al, 2007)

Les équins peuvent recevoir les leishmanies mais y sont peu sensibles. Les équins infectés semblent incapables de transférer le parasite aux phlébotomes donc ils ne constituent pas un réservoir secondaire. (Gramiccia, 2011 et Cerqueira et al, 2003).

Le renard est considéré comme un réservoir secondaire pour l'homme, il peut être contaminé par *L.infantum*.

Certains rongeurs comme les rats ont été retrouvés infectés par *Leishmania infantum*. Il paraîtrait néanmoins que ces animaux aient été infestés occasionnellement, il faut donc les considérer plus comme des hôtes accidentels et ne constituant vraisemblablement en aucune manière des réservoirs sauvages. Certes, sur 252 rongeurs capturés dans le Sud de la France dans un endroit où les cas humains et canins sont fréquents, aucun rongeur n'a été diagnostiqué porteur de *Leishmania infantum* (Rioux et al, 1985 ; Dedet J-P, 1999 et Mazelet, 2004).

2.3.2 Répartition

2.3.2.1 Mondiale

Il y a des leishmanioses partout dans le monde. Cependant, il existe deux endroits de foyers endémiques :

- Les leishmanioses de l'ancien monde :

Bassin méditerranéen (dont tout le sud de l'Europe et la France), Proche, Moyen et Extrême-Orient, et l'Afrique

- Les leishmanioses du nouveau monde :

Sud de l'Amérique du Nord (Mexique), Més-Amérique, et Amérique du sud

Cette parasitose touche principalement, les populations qui vivent dans des conditions précaires dans les milieux ruraux et suburbains. Au sein de ces endroits le taux de contamination est très élevé.

2.3.2.2 En France

2.3.2.2.1 leishmaniose humaine

Les cas de leishmanioses humaines autochtones ou importés étant diagnostiqués sont recensés depuis 1998 par le Centre National de Recherche de Leishmania (CNRL) en France. Ce recensement est mis en place par l'intermédiaire des formulaires de déclarations qui sont renvoyés par des médecins généraux et les centres hospitaliers.

Entre 1999 et 2010, sur le territoire national (Guyane comprise), le CNRL a comptabilisé 1432 cas de leishmaniose humaine, dont 300 cas de leishmaniose viscérale, 1118 cas de leishmaniose cutanée et 14 de leishmaniose muqueuse. Le nombre de cas autochtones strictement, déclarés de 1999 à 2010, était de 232 pour

les formes viscérales et de 26 pour les formes cutanées, soit un total de 258 cas en un peu plus de dix ans (CNRL).

Tableau 2: Surveillance des leishmanioses humaines : déclarations de 1999-2010. Source : Centre National de Références des Leishmania (page consultée le 27 août 2013)

		1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Cas autochtones (France métropolitaine)	LV	22	30	31	18	20	18	19	16	22	17	14	5
	LC	1	0	4	4	2	0	0	3	1	4	2	5
	LM	1	0	0	1	1	0	0	0	2	0	3	1
Cas importés (en France métropolitaine)	LV	3	6	3	5	5	8	6	7	7	4	8	6
	LC	17	22	33	34	50	60	60	43	34	56	55	50
	LC Guyane	62	9	3	9	21	32	17	8	21	33	35	96
	LM	2	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
Origine non précisée										1	6	7	6
Total cas déclarés en France métrop.		108	67	74	71	99	119	102	77	88	120	124	169
LC : cas déclarés en Guyane		0	0	0	0	248	339	261	95	123	113	119	158
Total général des cas déclarés		108	67	74	71	347	458	365	172	211	233	243	327

On constate 22 cas par an (dont 85 % de formes viscérales), donc la répercussion moyenne de cas autochtones estimée est relativement basse. En revanche, la quantité de cas importés est plus élevée et estimée en moyenne à soixante-cinq cas et demi par an (dont 91% de formes cutanées). (Dedet, 2010)

2.3.2.2.2 La leishmaniose canine

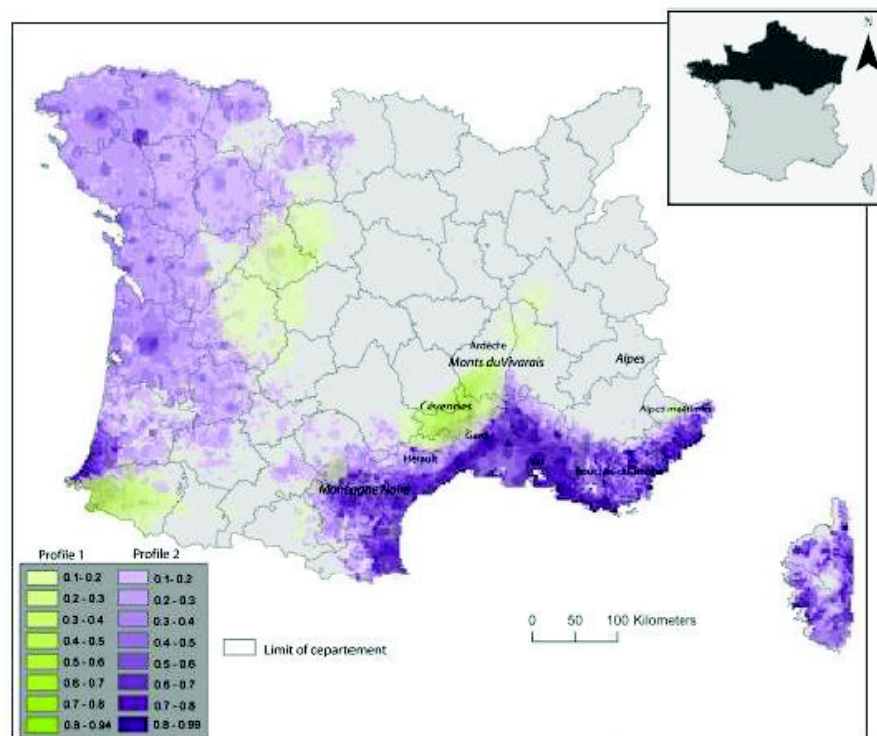
Il existe quatre foyers essentiels d'endémicité en France métropolitaine :

- A l'est du Rhône, où l'on retrouve majoritairement *Phlebotomus perniciosus*, avec les foyers provençaux, de la côte d'Azur et la Corse.
- À l'ouest du Rhône, à cet endroit le vecteur principal est *Phlebotomus ariasi*, avec les foyers catalan et languedocien.

- Dans la région de Paris, de Tours, en Ariège, des foyers ectopiques sont aussi connus aux endroits où la maladie est sporadique.

Une cartographie du risque leishmanien chez le chien dans le sud de la France a pu être établie via une étude rétrospective menée en France de 1965 à 2007. (Martinelli 2013)

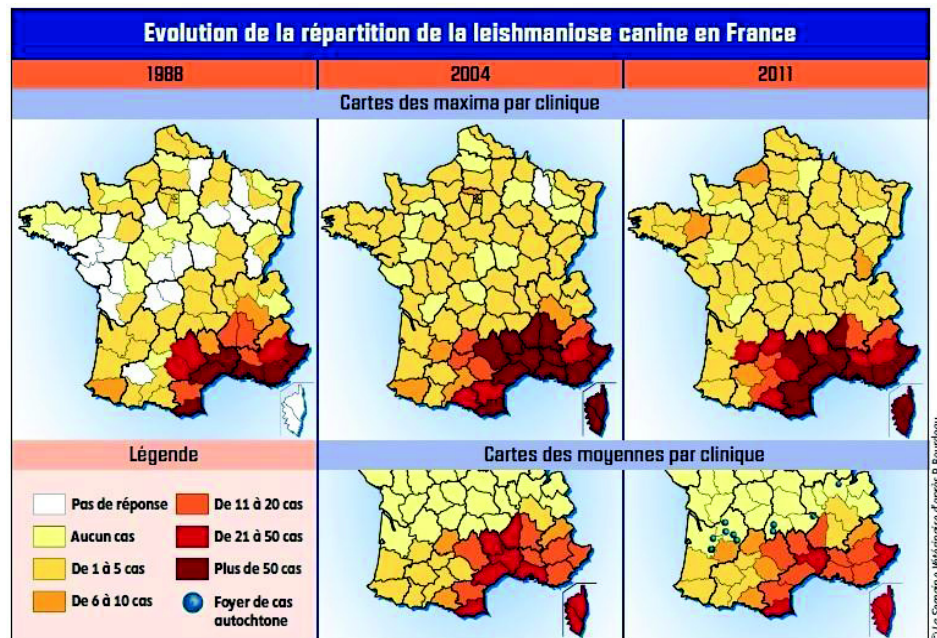
Cette dernière met en évidence une extension de la maladie vers l'ouest et le nord de la France : le long de la côte atlantique (des Pyrénées Atlantiques jusqu'à la Loire Atlantique) par rapport aux foyers originaux de la maladie dans le sud-est (Chamaillé et al, 2010).



Carte 2: Cartographie du risque de leishmaniose canine dans le sud de la France. En vert : foyer associé à *P. perniciosus* (Chamaillé et al, 2010)

Toutefois cette extension vers le sud-ouest semble se poursuivre (voir carte 3), comme on peut l'observer dans une enquête épidémiologique menée d'octobre 2010 à février 2011 auprès de plus de 1300 cliniques vétérinaires. Ainsi en 2011, la

moyenne du nombre de cas par an et par clinique atteint au moins 6 dans 20 départements. Parmi ces départements, 4 dont la Corse atteignent de 21 à 50 cas par an (Bourdeau, 2011).



Carte 3 : Evolution du nombre de cas de leishmaniose en France de 1998 à 2011 (La leishmaniose gagne du terrain en France, Bourdeau P, semaine vétérinaire- A la une N°1455 DU 17/06/2011)

Il existe plusieurs agents agissant sur les populations de vecteurs qui peuvent expliquer cette extension : transformation des comportements humains, modifications climatiques, adaptation de l'occupation et de l'exploitation du terrain, modification des réseaux hydrauliques. (Martinelli 2013)

2.4 Cycle

Il s'agit ici d'un cycle hétéroxène.

Les formes amastigotes sont ingurgitées lors du repas sanguin, chez le phlébotome.

Elles se métamorphosent ensuite en formes promastigotes dans les heures suivant ce repas. Ces formes subissent par la suite un cycle compliqué qui comprend de nombreuses divisions mitotiques. On observe deux phases d'ancrage à l'épithélium de la muqueuse intestinale et une étape de migration vers la partie antérieure du tube digestif. A l'intérieur de l'intestin se déroule le changement en formes virulentes que l'on appelle promastigotes métacycliques infectantes.

Lors d'un prochain repas sanguin, ces formes promastigotes métacycliques infectantes sont alors régurgitées dans le derme d'un hôte propice. A l'endroit exact de la piqûre, l'inoculation intradermique de promastigotes métacycliques induit une lésion qui paraît le plus souvent indiscernable car le devenir dépend de plusieurs éléments : Le tropisme cutané, muqueux, ou viscéral des différentes espèces de *Leishmania*. Les formes promastigotes se transforment en formes amastigotes dès lors qu'il y a une insertion intracellulaire. (Anofel, 2013)

En plus concis, la vecteur femelle pique l'hôte et aspire le sang avec les amastigotes contenus dans les leucocytes. Les globules blancs sont digérés dans le tube digestif du vecteur. Il y a alors transformation des amastigotes en promastigotes. Puis multiplication considérable dans le tube digestif. Les promastigotes migrent vers la trompe du phlébotome. Puis, Il y a ensuite régurgitation lors d'une piqûre : les promastigotes se retrouvent alors dans la circulation périphérique de l'homme. Ils sont phagocytés par des globules blancs et s'y transforment en amastigotes. (Favennec 2013)

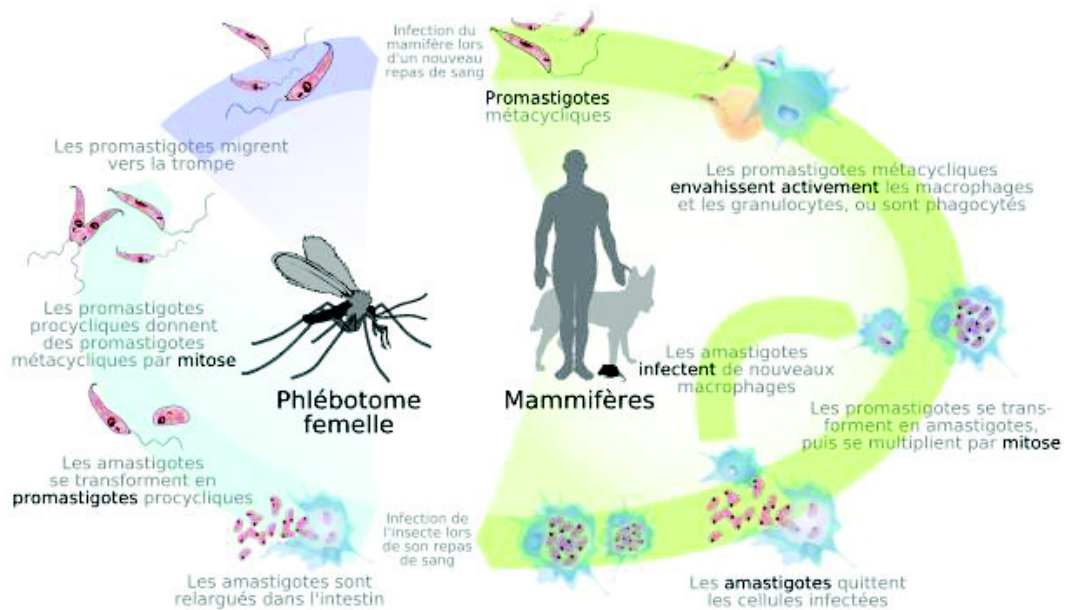


Schéma 1: Cycle biologique de la leishmaniose

2.5 Mécanisme d'action :

La leishmaniose forme un groupe de protozoaire flagellé trypanosomidés qui constitue des parasites intracellulaires du SPM (système phagocytaire mononucléé) de vertébrés mammifères et reptiles. Comme cela est dit précédemment, il en existe deux formes :

- ❖ Flagellées avec un flagelle antérieur que l'on retrouve dans les cultures et chez les vecteurs : forme promastigotes.
- ❖ Dépourvues de flagelle libre (réduction intracellulaire à sa racine du flagelle) : forme amastigote.

La surexpression de kinésines est la cause de l'atrophie du flagelle des formes leishmaniennes. Cela provoque la dépolymérisation de la tubuline des microtubules du flagelle.

La paroi est constituée d'une membrane externe et d'une membrane interne. Ces membranes sont formées de composants ayant un rôle considérable dans l'endocytose des parasites et dans les phénomènes immunologiques accompagnant les infections leishmaniennes :

- ❖ Un lipophosphoglycane
- ❖ Des glycolipides et glyco-inositolphospholipides
- ❖ Des enzymes :
 - Glycoprotéines : GP 63 (60-65 kDA) ; GP 42 ; GP 43 (43 kDA), laminine de surface ; GP 46 (absente dans le sous-genre viannia)
 - Cystine-protéinases
 - Une protéine de la famille tryptophane-acide aspartique, le LACK

Une kinase est contenue dans le cytoplasme, et est impliquée dans la survie des leishmanies dans les cellules parasitées.

La leishmaniose est un parasite du système des phagocytes mononucléés (SPM) :

- ❖ Dans les macrophages et histiocytes dermiques, les cellules de küpffer et les splénocytes, les parasites sont logés dans une vacuole parasitophore dans un environnement acide. Selon les parasites leur aspect est différent. Il n'y a qu'un seul élément dans une petite vacuole pour les leishmanies de l'ancien monde. Cependant, pour les leishmanies du nouveau monde il y a une vacuole plus grande et poly parasitées qui permet une multiplication plus rapide.
- ❖ Dans le foie, les leishmanioses viscérales ont la capacité d'affecter aussi les hépatocytes.

Dans le métabolisme des leishmanies il y a une biosynthèse des polyamines nécessaire à celle de l'ARN pour la multiplication des parasites. Cette synthèse est opérée par l'**ornithine décarboxylase**.

Il y a inhibition de l'ornithine décarboxylase par la difluorométhylornithine (=éflornithine) qui est le mécanisme d'un des médicaments antileishmanien.

De plus, la synthèse de l'**hypoxanthine** est également essentielle car la xanthine stimule la multiplication des promastigotes en culture. Cela est inhibé par l'allopurinol.

Par ailleurs, la trypanothione protège les leishmanies, dénuées de catalase et de peroxydase sélénium-dépendantes, contre les radicaux oxygénés qui les détruiraient.

Les médicaments des trypanosomes africaine et leishmanioses, que sont les composés arsenicaux et stibiés trivalents, agissent en formant des conjugués avec la trypanothione et le glutathion. (Euzeby 2008)

2.6 Symptômes

La période d'incubation de la leishmaniose canine varie de 3 mois à 7 ans. Néanmoins, la maladie peut ne jamais se déclarer. Une fois déclarée, la maladie est systémique et peut toucher n'importe quel organe ou tissu. (Martinelli, 2013)

La leishmaniose chez le chien est plutôt une leishmaniose « générale » qu'une leishmaniose viscérale ou cutanée au sens stricte car la maladie se manifeste toujours par des lésions cutanéomuqueuses et viscérales, même si les lésions cutanées sont les plus fréquentes et constituent souvent le seul tableau clinique.

En effet, les leishmanioses sont généralement séparées en leishmanioses viscérales et leishmanioses cutanées même si cette distinction n'est pas absolue.

Il existe un caractère commun à toutes les formes de l'infection leishmanienne :

Le développement de granulomes polymorphes constitués de lymphocytes, plasmocytes, éosinophiles, cellules géantes et surtout de gros macrophages parasités. Formation d'amas nodulaires par agglomération des granulomes, qui peuvent entourer les vaisseaux du derme et des viscères et être la cause d'ischémie et de troubles trophiques. Ils peuvent également agir comme des corps étrangers ou s'ulcérer requérant une réaction conjonctive qui peut prendre, au niveau du derme, un aspect bourgeonnant voire pseudo verruqueux.

Un chancre d'inoculation cutané ou muqueux est le commencement de toutes les leishmanioses.

La leishmaniose canine comporte une association de signes cliniques viscéraux et de symptômes cutané-muqueux. (Euzeby, 2008)

D'un point de vue histo-pathologique, il s'agit d'une réaction inflammatoire granulomateuse, associée à la présence de leishmanies dans les macrophages.

2.6.1 Symptomatologie générale

La plupart des chiens qui déclarent cette parasitose développent un état général très mauvais avec une léthargie plus ou moins prononcée combinée à une intolérance à l'effort et également un calomnieux état corporel (amyotrophie élevée voire cachexie). On définit cet état comme « aspect de vieux chien ».

On constate la plupart du temps une hypertrophie des noeuds lymphatiques (particulièrement les noeuds lymphatiques poplités et pré-scapulaires), des muqueuses pâles (anémies). Il est possible qu'il y ait des boiteries, des hépatosplénomégalies et des troubles digestifs. Il est aussi possible qu'il y ait des épistaxis et de la fièvre.

L'ensemble de ces troubles sont non spécifiques. En effet, certains chiens peuvent ne présenter qu'un ou plusieurs signes ce qui rend le diagnostic délicat.



Photo 2: Epistaxis

2.6.2 Symptomatologie cutanée

Ce sont les lésions le plus couramment retrouvées lors de leishmaniose clinique. Elles peuvent être liées ou non à d'autres sortes de lésions voire être inexistantes. Il s'agit de dermatites, qui peuvent être de variables sortes :

- ❖ exfoliative non prurigineuse avec ou sans alopecie, généralisée ou localisée à la face le plus fréquemment sur le pourtour des yeux (on parle de « lunettes leishmaniennes »), aux membres et aux oreilles ;
- ❖ ulcérateive au niveau des saillies osseuses, des jonctions cutanéomuqueuses, des pavillons auriculaires et des pattes ;
- ❖ papuleuse ou pustuleuse stérile.
- ❖ para ou hyperkératose (on parle de « furfur leishmanien »), qui peuvent être positionnée sur l'intégralité du corps de l'animal ;
- ❖ nodulaire focale ou multifocale ;

Quelques chiens ont la possibilité d'avoir des symptômes plus rares tels que l'onychogryphose qui est une dépilation, ou encore l'allongement des griffes ou bien même d'autres lésions cutanées atypiques (panniculite, dépigmentation...). (Martinelli, 2013)



Photo 3: Photographie d'une chien en fin d'évolution de leishmaniose: cachexie sévère (G.S.L.C : Gruppo di Studio Sulla Leishmaniosi Canina)



photo 4: onychogriphose

2.6.3 Symptomatologie oculaire

Les signes cliniques oculaires dans la leishmaniose varient grandement d'un chien à l'autre. Ces symptômes peuvent être liés à d'autres lésions ou bien être le seul symptôme. On rencontre régulièrement des blépharites, des conjonctivites, des uvéites, des kérato-conjonctivites, des lésions de la sclère, ou également des lésions granulomateuses ou myosites des muscles extrinsèques. (Martinelli, 2013)

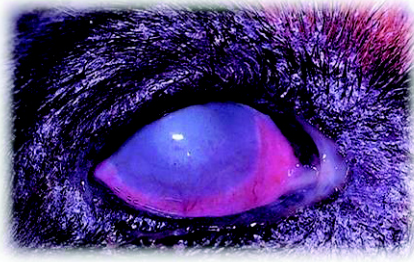


photo 5: atteinte oculaire chez un chien leishmanien

2.6.4 Symptomatologie rénale

Il est fondamental d'évaluer la fonction rénale chez les chiens ayant contracté la leishmaniose car cette maladie induit un trouble rénal chronique qui peut aller d'une simple protéinurie faible à un syndrome néphrotique sévère. Le stade final de l'insuffisance rénale est la cause majoritaire de mort due à la maladie.

Tous les chiens présentant des signes cliniques manifesteront des symptômes rénaux plus ou moins importants. Ceci est dû particulièrement aux dépôts d'immuns complexes sur le glomérule rénal. (Martinelli 2013)

2.6.5 Autres signes cliniques

Lors de leishmaniose canine il existe des formes inhabituelles étant donné que le polymorphisme clinique est considérable. En effet, il y a des boiteries (couplées à des polyarthrites, des lésions d'ostéomyélites ou de poly-myosites), entérites hémorragiques, plaies des muqueuses, hépatites chroniques, méningites, colites chroniques, hypo ou hyper-esthésies, parésies du train postérieur. Il peut y avoir une atteinte de la sphère cardio-vasculaire, ou encore un désordre auto-immuns. (Martinelli 2013)

2.6.6 Anomalies paracliniques

Certaines altérations paracliniques, amènent à soupçonner une leishmaniose comme :

- ❖ une étonnante azotémie
- ❖ une protéinurie avec rapport protéine sur créatinine urinaire (RPCU) supérieur à 0,5
- ❖ une hyperglobulinémie poly-clonale gamma et parfois bêta, couplée ou non à une hypo-albuminémie, entraînant une réduction du rapport albumine/globuline
- ❖ une hyper-protéinémie sérique
- ❖ une élévation de l'activité des enzymes du foie
- ❖ une leucopénie ou une leucocytose
- ❖ une anémie non régénérative successive à la parasitose elle-même et/ou à l'insuffisance rénale chronique

Il existe d'autres symptômes comme l'hyperviscosité ou la thrombocytopénie, mais cela reste exceptionnels (Martinelli 2013)

Des réactions d'auto-immunité sont observées, consécutives à l'antigenicité des protéines conservées : HSP 70 et histone.

Des formes subcliniques sont rencontrées, elles sont liées à des sérologies très clairement positive. La PCR en temps réel (épreuve TaqMan) qui aide à dissocier les chiens qui contractent l'infection clinique, qui sont régulièrement polymorphes, des chiens qui sont uniquement séropositifs. (Euzeby 2008)

2.7 Le diagnostic

Le diagnostic de la leishmaniose canine peut se montrer particulièrement difficile, puisque les signes cliniques sont non spécifiques et que le polymorphisme clinique est très élevé.

Le rôle pour le professionnel(le)s de santé, est de trouver des symptômes cliniques ou paracliniques évoquant les signes cliniques de la leishmaniose canine afin de poser le diagnostic et de mettre en place une prise en charge thérapeutique le plus tôt possible. (Martinelli 2013)

2.7.1 Prédisposition

Certains facteurs peuvent favoriser le développement de cette parasitose chez le chien :

❖ **L'âge :**

Les jeunes chiens d'un à trois ans ou âgés de plus de huit ans sont plus susceptibles.

❖ **La race :**

Certaines races sont plus sensibles : Berger allemands, Boxers, Cockers Spaniel, Rottweilers

❖ **Le sexe :**

Selon les études, on trouve des résultats différents mais les femelles seraient moins touchées que les mâles.

❖ **L'activité du chien :**

Les chiens de chasse ou les chiens de gardes sont les deux types de chiens les plus contaminés par la maladie. En effet, ce sont les chiens les plus susceptibles d'être mordus par le vecteur par rapport aux chiens de compagnies et de bergers. On peut

en conclure que la façon de vivre de certains chiens conditionne la probabilité de contact avec le phlébotome ainsi que la rapidité de circulation du parasite. (Martinelli, 2013)

Comme ces facteurs favorisent cette maladie, ils permettent d'orienter plus facilement vers un diagnostic de leishmaniose.

2.7.2 Test rapide de diagnostic

Ce sont des tests qualitatifs qui sont utilisés :

- ❖ Pour soutenir un soupçon clinique rapidement au cabinet et à faible coût,
- ❖ Pour tranquilliser un propriétaire soucieux en zone de forte endémicité,
- ❖ Au préalable d'une vaccination contre la leishmaniose.

Divers tests de « dépistage rapide » sont, à l'heure actuelle, disponibles pour les vétérinaires (Marcondes et al, 2011) :

- Le Snap Leish® (sensibilité de 75,86%) s'appuyant sur le principe de l'ELISA sur membrane.
- Le Speed® Leish K (sensibilité de 98% et spécificité de 100%) s'appuyant sur le principe de l'immunochromatographie qui est à favoriser dans les régions d'endémie.
- Le Witness® Leishmania (sensibilité de 91,95%) s'appuyant aussi sur le principe de l'immunochromatographie.
- Snap® CLATK (Canine Leishmania Antibody Test Kit) s'appuyant sur le principe de l'ELISA (sensibilité de 94,7% et spécificité de 90,6%).

L'interprétation dépend de chaque test et il est indispensable de bien suivre les instructions décrites par le laboratoire pour établir un diagnostic.

Si un résultat est négatif malgré une forte suspicion clinique, il est préférable de renouveler le test postérieurement ou d'utiliser des tests plus sensibles.

Si un résultat est positif, et si les propriétaires sont d'accords, il est conseillé de réaliser tout de même un autre test de laboratoire quantitatif (PCR, ELISA, ou IFAT) lorsqu'un traitement est envisagé, afin de préciser le titre en anticorps. (Durpoix, 2008)

2.7.3 Diagnostic au laboratoire

2.7.3.1 Méthode non spécifique et de présomption de la leishmaniose

2.7.3.1.1 Perturbation biochimique

Premièrement, si on fait une analyse biochimique intégrale, il est possible d'observer :

- ❖ Une hyper-protéïnémie
- ❖ Une azotémie : élévation de l'urée et de la créatinine (Martinelli 2013)
- ❖ Une hyper-gammaglobulinémie qui est polyclonale et associée d'hypo-albuminémie, celle-ci amène à une diminution du rapport albumines/ protéines
- ❖ On peut également constater un profil de coagulation de base pouvant mettre en évidence une hyper-fibrinogénémie et une élévation potentielle du temps de prothrombine ainsi que du temps de thromboplastine activée

Grâce à l'élaboration d'une électrophorèse des protéines on peut spécifier :

- ❖ Une gammopathie poly ou oligo-clonale
- ❖ Une élévation des α_2 -globulines

Via une analyse urinaire on peut constater :

- ❖ Une isosthénurie ou des urines diluées
- ❖ Une protéinurie plus ou moins considérable

Deuxièmement, des analyses supplémentaires peuvent être mises en oeuvre, afin d'examiner plus rigoureusement un organe (enzyme hépatique, myélogramme). (Martinelli 2012)

2.7.3.1.2 Perturbations sanguines

Lors d'une leishmaniose on peut observer une pancytopénie. Celle-ci peut être constatée lors de l'élaboration d'un hémogramme complet.

En effet on peut remarquer :

- ❖ très fréquemment, une anémie normochrome, normocytaire, arégénérative. Cette dernière apparaît en premier. Une anémie hémolytique à médiation immune (régénérative) (Briffod, 2001)
- ❖ une leucocytose monocytaire voire neutrophilique
- ❖ une lymphopénie et/ou éosinophilie et/ou leucopénie (martinelli 2013). La leucopénie vise particulièrement les granulocytes et peut être très profonde.
- ❖ une thrombocytopénie (est envisageable) qui est plus tardive et demeure longtemps modérée. (Briffod, 2011)

2.7.3.2 Méthode de certitude

2.7.3.2.1 Mise en évidence directe du parasite

Les procédés de diagnostic direct nous aident à montrer la présence du protozoaire ou de son ADN. Plusieurs méthodes existent, cependant seulement certaines sont utilisées par les praticiens. Ces méthodes sont décrites ci-dessous :

- ❖ **L'histologie** se fait sur des coupes de tissus colorés à l'hémalun-éosine et peut aider à déceler des leishmanies et/ou des changements dans la structure des tissus. Cependant, cette technique est moins sensible que la cytologie. (Martinelli 2013)

- ❖ **La cytologie** quant à elle, a un protocole qui s'organise de la manière suivante : un échantillon est prélevé après aspiration à l'aiguille fine, suivi d'un étalement puis d'une coloration. Cette coloration des lésions cutanées nodulaires/papuleuses ou ulcératives, de moelle osseuse, de nœud lymphatique ou bien encore de sang, de liquide céphalo-rachidien (LCR) ou de liquide synovial permet de mettre en évidence ou d'apercevoir des formes amastigotes au microscope.

- ❖ Une **coloration immuno-histochimique** peut être liée à l'histologie pour affirmer le diagnostic de celle-ci. Ce constat s'effectue plus particulièrement lorsque les parasites sont difficilement identifiables mais que le pattern histologique confirme le diagnostic.

Les trois techniques décrites ci-dessus sont dépendantes de certains paramètres comme les qualités de l'observateur. Les faux positifs (formes amastigotes confondues avec des artéfacts) et/ou de faux négatifs (car la sensibilité est dépendante de la charge parasitaire) sont donc possibles. (Garnier 2012)

Les protocoles utilisés sont les suivants pour la mise en évidence du parasite et coloration :

Il faut faire un prélèvement afin de réaliser un frottis et ceci à des endroits différents :

- *Produit de ponction ganglionnaire (ganglion pré-scapulaire ou poplité)*
- *Ponction médullaire (sternum, fémur)*
- *Lambeau de peau très fin au bord libre de l'oreille*
- *Raclage du derme à la périphérie des ulcères*

Puis on réalise la fixation et la coloration du frottis :

- *Fixer à l'alcool iodé à 2% durant 10 minutes*
- *Différencier à l'alcool à 95%*
- *Sécher*
- *Colorer avec le May-Grundwald-Giemsa à parties égales (May-Grungwald, trois gouttes, Giemsa, trois gouttes ; eau : 2ml)*
- *Laisser agir 45 minutes*
- *Rincer*
- *Puis enfin observer au microscope à immersion (objectif 1000)*

❖ **La réaction de polymérase en chaîne (PCR)**

La PCR est un terme apparu en 1985, on peut également l'appeler amplification génique.

C'est une méthode contemporaine qui permet l'analyse de l'acide désoxyribonucléique en se prêtant à l'automatisation et qui emploie la biologie moléculaire. Elle aide à augmenter la quantité d'ADN (gène ou fragment de gène) venant du prélèvement étudié, par l'intermédiaire d'une ADN polymérase (C'est amplification en chaîne PCR). La série amplifiée est ensuite mise en parallèle avec d'autres séquences nucléotidiques conservées dans des banques de données. On peut alors déterminer un virus ou une bactérie ou encore faire ressortir une mutation de gène afin d'aider à diagnostiquer une maladie génétique. (Garnier, 2012)

L'amplification et la détection de l'ADN par PCR, est une technique très spécifique, sensible et rapide qui peut être faite à partir de tout prélèvement. Cependant de

manière expérimentale, c'est sur le sang et la moelle osseuse que cette méthode est avantageuse.

L'avantage de cette méthode concerne particulièrement le suivi de l'évolution de la maladie lorsque le patient est déjà sous traitement. C'est également un marqueur anticipé de la rechute chez l'immunodéprimé. Par ailleurs, cette méthode permet l'identification précoce de l'espèce mise en cause. (Anofel, 2013)

Cette technique aide à déceler la leishmaniose chez les canins symptomatiques et asymptomatiques. Elle concerne les canins pour qui la séroconversion n'a pas encore eu lieu.

On peut grâce à cette méthode, soutenir et attester d'une cytologie ou une histologie négative lorsque l'on a des soupçons. Les tissus à faire analyser (en frais, congelés ou fixés dans l'alcool à 95%) sont la moelle osseuse comme stipulé précédemment, les noeuds lymphatiques ou la peau.

Grâce à une étude récente, on constate qu'en zone endémique les écouvillons nasaux et oraux (prélèvement de cellules de la muqueuse nasale ou orale) donnent des résultats identiques (sensibilité équivalente) en PCR classique, ce sont donc des prélèvements de choix car non invasifs, indolores et rapides.

Il y a plusieurs techniques de PCR, cependant la méthode de PCR quantitative en temps réel est efficace pour évaluer la charge parasitaire de départ et déceler d'infimes quantités d'ADN parasitaire (sensibilité de 98,7% et spécificité de 83,3%).

La PCR négative chez un chien suspecté d'avoir la leishmaniose, n'est pas suffisante pour rejeter l'infection de cette parasitose. Il est impératif de comparer les résultats obtenus avec ceux de l'examen clinique ainsi que ceux des examens complémentaires. (Martinelli 2013)

2.7.3.2.2 Mise en évidence indirecte du parasite : sérologie

Le principe de cette méthode permet de déceler des anticorps dirigés contre des leishmanies.

La synthèse d'anticorps est faible pendant les phases initiales et finales de la maladie ou chez les animaux asymptomatiques. La seule présence d'anticorps n'est pas un critère exclusif pour déterminer une leishmaniose. Pour confirmer le diagnostic de la maladie il est alors indispensable de réaliser un nouveau test positif 3 mois plus tard.

La sérologie nous aide à détecter les immunoglobulines circulantes, de façon expérimentale la différenciation des sous-classes n'étant pas faite. Il peut exister des réactions croisées avec quelques parasites tel qu'*Erichia canis*, entraînant de faux positifs. De faux négatifs sont également possibles car la séroconversion peut avoir lieu de un à vingt-deux mois après l'infection.

❖ **L'ELISA (Enzyme Liked Immunoabsorbent Assay)**

Cette technique se pratique sur des sérums qui sont dilués utilisant des antigènes de leishmanies. C'est une méthode quantitative qui produit une réaction colorimétrique lorsque le chien est séropositif. Cela peut être quantifié par spectrophotométrie. La sensibilité du test change en fonction de l'antigène de l'espèce prélevée alors atteinte de leishmaniose. C'est une méthode très employée sur le terrain car il est possible de tester plusieurs échantillons en même temps. (Martinelli 2013)

❖ **L'IFAT (Indirect Immunofluorescent Antibody Test)**

Cette méthode se pratique sur sérum, et a pour but d'exploiter des conjugués d'anticorps fluorescents dirigés contre les leishmanies ainsi que les formes promastigotes de leishmanies. Il y a des dilutions successives permettant de quantifier la proportion en anticorps du sérum (le seuil de positivité varie entre des dilutions au 1:40 et 1:160 selon les laboratoires).

La sensibilité de cette méthode qui utilise des antigènes entiers de formes promastigotes est moins efficace pour détecter cette parasitose chez le chien

asymptomatique. Néanmoins, c'est une méthode très spécifique et très sensible. Une des limites de ce test est l'évaluation de l'intensité de la fluorescence qui est très subjective.

C'est le test de référence (d'après l'Organisation Mondiale de la Santé et l'Organisation Mondiale pour la Santé Animale) pour le suivi de l'efficacité d'une thérapeutique et pour les études épidémiologiques ainsi que pour le diagnostic sérologique en pratique clinique (envoi de prélèvements au laboratoire par les praticiens). Cependant, pour la recherche (détection de *Leishmania infantum* sur des canins infectés expérimentalement), il semblerait en revanche que les méthodes les plus performantes soient celles utilisant la technique ELISA expliquées ci-dessus.

Effectivement, dans l'étude de Rodriguez-Cortes et al. (2013), l'IFAT remporte de moins bons résultats qu'ELISA pour toutes les variables mesurées :

- la sensibilité varie de 98% à 76% pour les 3 tests basés sur la technique ELISA contre 65% pour l'IFAT,
- la spécificité est de 100% pour tous les tests ELISA contre 94% pour l'IFAT.

❖ **Les TESTS basés sur l'immuno-chromatographie**

Ils ont une sensibilité inférieure à celle des techniques précédentes cependant ils ont une très bonne spécificité et sont très simples à pratiquer. Il est donc indispensable de pratiquer d'autres tests sérologiques en cas de forte suspicion symptomatique et de résultats négatifs en immuno-chromatographie afin d'accréditer ou non le diagnostic. (Martinelli 2013)

2.7.4 En pratique

Il est indispensable de sélectionner les tests les plus profitables en fonction :

- De l'utilisation que l'on désire en faire : diagnostic individuel ou enquête épidémiologique.

- Du coût.
- De la zone d'exercice : en zone d'endémie il est préférable d'utiliser les techniques les plus sensibles.
- De l'objectif recherché : certifier une suspicion clinique ou réaliser un contrôle sur un animal symptomatiquement sain.
- Du stade de la parasitose : la PCR aide par exemple à une détection plus précoce des individus infectés, que la sérologie (la séroconversion n'est pas instantanée) et induit moins de faux positifs

2.7.4.1 Chez les canins, ayant des signes cliniques et/ou para-cliniques accordables :

(Voir schéma 2 ci-dessous page 52)

- ❖ Une sérologie doit être pratiquée (sang sur tube sec), il est préférable de pouvoir quantifier le titre en anticorps (IFAT, ELISA).
- ❖ Si le résultat est négatif mais de forte suspicion ou de résultat faiblement positif, une observation directe au microscope (calques cutanés, adénogramme, myélogramme) peut aider à voir des leishmanies.
- ❖ Ici également, si le résultat est négatif mais de forte suspicion clinique, subsistent, une PCR peut éventuellement être réalisée (noeuds lymphatiques voire sang).

2.7.4.2 Chez les canins, cliniquement sains :

Lors d'un voyage en zone (non-)endémique, les chiens donneurs pour les transfusions sanguines, ou bien pour les propriétaires de chiens en zone endémique voulant réaliser des suivis réguliers :

- ❖ Un contrôle sérologique (quantitatif) doit être pratiqué trois mois après la période de contamination possible afin d'être certain que la séroconversion ai bien eu lieu.
- ❖ Une PCR très sensible (RT-PCR) peut y être liée, notamment pour les chiens donneurs (Martinelli 2013)

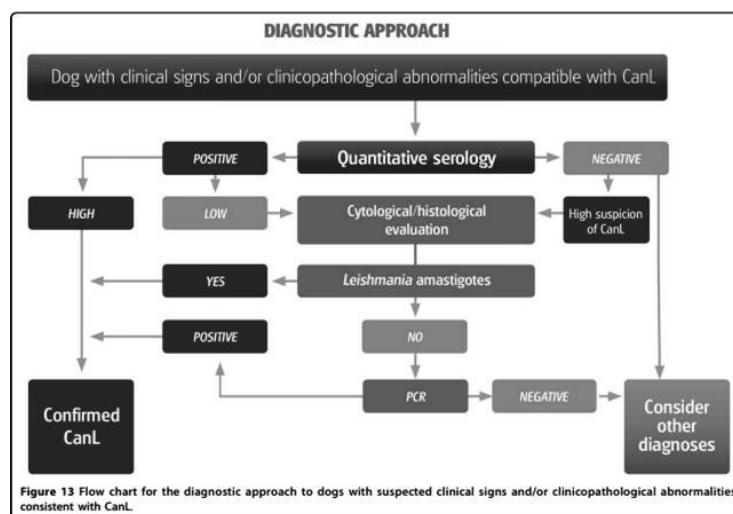


Schéma 2: Conduite diagnostique à tenir face à un chien présentant des signes cliniques et/ou des anomalies para-cliniques compatibles avec la leishmaniose canine

Au terme d'un diagnostic confirmé (suspicion clinique, sérologie «positive», mise en évidence du parasite) le praticien doit donc se préoccuper d'abord des risques de transmission à l'homme, puis des chances de guérison clinique de l'animal. (Bourdoiseau, 2000)

2.8 Traitements

Au préalable de l'instauration d'une thérapeutique, le vétérinaire doit avertir le propriétaire que cette parasitose est une zoonose et doit spécifier que :

- ❖ La transmission se fait essentiellement par la pique d'un phlébotome infecté.

- ❖ La propagation chien-homme est envisagée et exposée mais cela est très rare. Cette diffusion peut se faire par contact des ulcérations par où s'échappe la lymphe.
- ❖ En zone endémique, (étant donné que les canins constituent un réservoir élevé des alentours et un réservoir naturel) le contact avec un chien infecté au milieu d'un foyer d'endémicité ne paraît pas accroître réellement le risque d'avoir la maladie.
Euthanasier un chien infecté ne va pas sécuriser davantage les propriétaires, ce n'est donc pas conseillé.

D'après une étude dirigée dans des refuges de la communauté de Valenciennes, la prévalence de la maladie n'est guère plus élevée dans les endroits où l'on euthanasie les chiens en comparaison avec des endroits où les chiens sont traités.

Il est tout de même conseillé d'euthanasier les chiens s'il y a dans l'environnement des personnes immunodéprimées. Ces personnes étant suivies d'une thérapeutique avec immunosuppresseurs ou atteintes d'une maladie. Il en est de même pour un environnement fréquenté par de jeunes enfants.

Une zone accueillant un chien infecté par la leishmaniose est une insécurité importante pour les mammifères pouvant être contaminés.

Les risques de complications d'un côté et les chances d'améliorations de l'autre côté doivent être pris en considération pour la décision de la thérapeutique ou non.

Si on décide de traiter, cette décision doit être prise le plus précocement possible après la dégradation de l'état para-(clinique) du chien afin que le traitement soit plus efficace.

Comme la réponse immunitaire est influençable et que les conséquences cliniques sont très inconstantes alors le traitement est difficile à mettre en place.

La sélection du protocole thérapeutique se fait en fonction de l'état symptomatique du chien (fonction rénale), de l'ancienneté de la maladie (première crise ou rechute) du titre en anticorps si celui-ci a été révélé et de la bienveillance des propriétaires (coût non négligeable et observance difficile). (Martinelli 2013)

2.8.1 Traitement Curatif

Les leishmanicides sont des médicaments employés dans le traitement des leishmanioses. Les principales familles sont :

- ❖ Les stibiés organiques pentavalents qui n'agissent qu'après avoir été métabolisés en stibiés trivalents : antimoniate de methylglucamine (meglumine), stibogluconate de sodium (pentastib)
- ❖ Les diamidines (pentamidine)
- ❖ L'amphotéricine B
- ❖ Les quinolones (enrofloxines, marboflaxines)
- ❖ L'allopurinol
- ❖ Les imidazoles (ketoconazole)
- ❖ Les cétones aromatiques (chalcones)

Les stibiés sont les remèdes les plus utilisés mais comme tous les médicaments contre la leishmaniose ils ne sont pleinement efficaces qu'associés à une bonne réaction immunologique à médiation cellulaire. Le plus souvent cette réaction est déficiente chez le chien (le lévamisole peut stimuler la réaction immunitaire). Toutes les thérapeutiques employées n'ont pas l'autorisation de mise sur le marché vétérinaire et tous sont contre-indiqués en cas d'hépatonéphrite grave. (Euzéby 2008)

2.8.1.1 Les stibiés pentavalents

La performance des antimoniés dans la thérapeutique de la leishmaniose est affirmée par presque un siècle d'utilisation.

Les molécules disponibles sont l'antimoniate de méglumine (glucantime) en France et le stibogluconate de sodium (Pentostam) dans les pays anglo-saxons. (Anofel, 2013)

Ces composés ont comme mécanisme l'inhibition de la synthèse de l'adenosine-triphosphate oxydation des glucides et acides gras. (Euzeby 2008)

En effet, les composés antimoniaux diminuent sélectivement la glycolyse et l'oxydation des acides gras des leishmanies. Ils permettent une régression de la charge parasitaire, le rétablissement d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire et peuvent provoquer une réduction du taux d'anticorps. Enfin, ils montrent des progrès cliniques ainsi que la restauration des données biochimiques et hématologiques. Les effets bénéfiques de cette thérapeutique sont aperçus au bout d'une à quelques semaines mais des rechutes sont envisageables (de quelques mois à un ou deux ans après l'arrêt du traitement). (Briffod, 2011)

En revanche, ce traitement ne permet pas l'élimination complète des parasites chez les chiens infectés. Quelques mois après le traitement, des leishmanies peuvent toujours être détectées dans certains tissus chez des chiens « guéris » cliniquement. Classiquement, les rechutes cliniques arrivent de quelques mois à un à deux ans après le traitement et leurs fréquences augmentent lorsque la période de traitement initiale était inférieure à quatre semaines. (Oliva et al, 2010)

L'antimoniote de méglumine a un temps de demi-vie très court chez les chiens puisqu'il est de vingt et une minutes lors d'administration intraveineuse, de quarante-deux minutes lors d'administration intramusculaire et cent vingt-deux minutes lors d'administration sous-cutanée. Environ six à neuf heures après administration, 80% à 95% du produit a été éliminé par les reins. Toutefois, la pharmacocinétique des antimoniaux varie de manière significative entre les chiens atteints de leishmaniose clinique et la défaillance rénale pourrait augmenter le temps de demi-vie de ces molécules comme cela a été montré chez le hamster (Solano-Gallego, 2009).

Les effets indésirables de ce traitement sont le plus souvent une douleur et un gonflement au point d'inoculation. Le chien peut notamment présenter de la fièvre, une perte d'appétit, de la diarrhée voire une élévation de l'activité des alanine-amino-transférases (ALAT) et de l'amylase sérique. Jusqu'à aujourd'hui, il n'y a aucune démonstration de lésions rénales induites par les composés antimoniaux chez le chien.

La posologie recommandée est de 100 mg/kg par voie sous-cutanée, une fois par jour, pendant trois à quatre semaines cependant connaissant la pharmacocinétique

de ces composés, cette dose est souvent divisée en deux doses quotidiennes de 50mg/kg. (Martinelli 2013)

L'existence d'une chimiorésistance est due :

- A une résistance à l'internalisation du médicament par défaut d'expression de l'aquaporine 1
- Au déficit de la réductase thiol-dépendante
- A un efflux : action de la protéine d'efflux PgpA (Euzeby 2008)

Dans une étude de SLAPPENDEL et TESKE (1997) 35 canins sur 41 traités ont montré une rémission clinique totale ou partielle et un diagnostic parasitologique négatif après 3 à 6 semaines de traitement. Néanmoins, trois quarts des chiens ont rechuté dans l'année qui a suivi cette thérapeutique.

D'autre part, une autre étude faite sur 60 chiens infectés expérimentalement par injection intraveineuse de promastigotes de *Leishmania infantum* et traités avec 40,8 mg/kg d'antimoine par jour en sous-cutané a démontré une charge parasitaire positive à l'issue du traitement chez tous les chiens. Par ailleurs, l'élévation constatée des taux d'anticorps anti-leishmanies dans les 3 à 5 mois qui suivent le traitement nous confirme 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 canins présentaient une Polymerase Chain Reaction (PCR) positive après la thérapie.

Le traitement utilisant l'antimoine est coûteux et difficile à utiliser dans les zones les moins favorisées. Les études faites ci-dessus nous démontrent que ce traitement engendre également l'apparition de souches résistantes, au détriment des autres chiens et de l'Homme. (Baneth, 2011)

Gambarelli et al. (1997) décrivent 3 souches de *L. infantum* responsables de leishmaniose viscérale qui sont aussi primo-résistantes aux antimoniate sur le bassin méditerranéen. L'apparition de résistances secondaires serait liée à une

utilisation médiocre du traitement, et plus particulièrement à une durée de traitement trop courte. (Catheland, 2005)

Cependant, la mise en place d'un traitement à base d'antimoniote de méglumine précocement dans la maladie associée à une bonne gestion des rechutes permet d'obtenir une moyenne de survie de quatre ans pour 75% des chiens traités (Oliva et al, 2010).

L'association antimoniote de méglumine et allopurinol constitue un traitement de choix lors d'une leishmaniose canine, nous reverrons cela dans la dernière partie de la thèse. (Martinelli 2013)

2.8.1.2 L'amphotéricine B

L'amphotéricine B est une thérapeutique qui peut être utilisée chez le chien. C'est le fungizone, est un traitement employé pour les mycoses systémiques. Il constitue un médicament contre les leishmanioses sévères (viscérales et muqueuses) ou lorsqu'il y a une résistance aux antimonies. C'est une réelle alternative aux soucis de résistance grâce à son prix accessible malgré la toxicité rénale.

Le mécanisme d'action de cette molécule est le suivant : Le cholestérol de la membrane des cellules hôtes est indispensable à l'ancrage du parasite sur ces cellules et leur incorporation dans la cellule ; la diminution du taux de cholestérol dans la membrane des macrophages par les cyclodextrines ou sa séquestration par l'amphotéricine B abaisse le pouvoir infectant des promastigotes métacycliques. (Euzeby 2008)

De plus, on sait qu'il s'agit d'un polyène qui interagit avec le stérol de la membrane de champignons et particulièrement l'ergostérol. Elle est responsable d'une altération de la perméabilité de ces organismes. En ce qui concerne les leishmanies, la membrane qui contient un stérol particulier basé sur l'ergostane explique l'efficacité de l'amphotéricine B.

L'inconvénient majeur de cette substance, bien que très efficace, est sa toxicité rénale importante. Certes, ses effets indésirables (relativement sévères) consistent en une altération de la fonction rénale, un état fébrile, des vomissements et de l'anorexie. Cette molécule est donc d'autant plus dangereuse si elle est utilisée chez des chiens dont les reins sont déjà endommagés. De plus, cette substance nécessite une administration intraveineuse et une préparation compliquée.

Chez le chien, l'amphotéricine B est administrée par voie intraveineuse après avoir été diluée dans une solution saline de chlorure de sodium 0.9% et émulsifiée avec de l'huile de soja. Cette préparation étant complexe, l'amphotéricine B est par conséquent peu employée par les praticiens malgré le fait qu'elle ait prouvé son efficacité clinique.

Cette thérapeutique est utilisée en perfusion intraveineuse lente, sous surveillance médicale durant 3 à 4 semaines, à la dose de 1 mg /kg par jour (un jour sur deux).

Par ailleurs, il existe une formulation liposomiale dont l'efficacité a été prouvée chez l'Homme, présentant moins d'effets indésirables mais dont le coût est beaucoup plus élevé. Son utilisation chez le chien permet une guérison clinique rapide mais généralement suivie de rechutes. Néanmoins, afin d'éviter le développement de résistance à ce traitement, l'Organisation Mondiale de la Santé n'encourage pas son utilisation chez les chiens atteints de leishmaniose. (Briffod, 2011)

Ce médicament possède une AMM, pour une utilisation dans la leishmaniose viscérale. Il a une toxicité moindre que la forme galénique conventionnelle. L'amphotéricine B a notamment une performance élevée dans la leishmaniose viscérale de l'immunodéprimé et de l'immunocompétent.

Chez l'immunocompétent, la stratégie posologique utilisée est une injection deux fois par jour de 3mg/kg pendant 5 jours, plus une injection à la même posologie au dixième jour (dose totale : 18mg/kg). Chez l'immunodéprimé, une mesure cumulée supérieure est sans aucun doute nécessaire. (Anofel, 2013)

2.8.1.3 Miltéfosine

Cette molécule est une alkyl-phosphocholine développée chez l'Homme en tant qu'agent anticancéreux dans un premier temps et utilisée comme traitement de la leishmaniose dans un second temps. C'est le premier traitement par voie orale disponible pour traiter la leishmaniose viscérale et cutanée. Depuis quelques temps, une formulation par voie orale a été acceptée dans certains pays d'Europe pour le traitement de chiens atteints de leishmaniose. Cependant ce n'est pas le cas en France. A ce jour, il y a peu d'études rapportant l'efficacité de cette substance pour le traitement de la protozoonose. (Miro et al, 2009 et Woerly et al, 2009)

Effectivement, en France cette molécule est utilisée uniquement en milieu hospitalier afin de prévenir l'émergence de souches résistantes pouvant contaminer l'Homme. On ne devrait donc pas utiliser ce traitement pour les chiens.

On note que cette molécule a une toxicité moindre que les antimoniés et la pentamidine, elle est très efficace.

Au niveau du mécanisme d'action cette thérapeutique entraîne donc la mort du parasite en détériorant les voies de signalisation de la fabrication des membranes cellulaires. Il y a une diminution notable de la charge parasitaire au niveau des noeuds lymphatiques ainsi qu'une restauration rapide des symptômes cliniques.

Chez l'Homme, la posologie journalière totale maximum est 150 mg. Et la dose conseillée est de 2.5 mg/kg quotidiennement. On peut obtenir une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) en France. Bien que ce médicament soit abortif et tératogène c'est une autre alternative à la chimiorésistance. (Anofel, 2013)

Il y a quelques effets indésirables qui sont : nausées, vomissements ou diarrhée.

Son association est meilleure lorsque cette molécule est associée à l'allopurinol. Les rechutes sont donc plus fréquentes lorsque le miltéfosine est utilisé en monothérapie. (Martinelli 2013)

Chez le chien, la dose recommandée, que ce soit seul ou en association, est de : 2 mg/kg, par voie orale, une fois par jour, pendant vingt-huit jours ou bien à la même dose mais associée avec 10mg/kg d'allopurinol deux fois par jour pendant plusieurs mois. (Oliva et al, 2010)

2.8.1.4 Le Marbofloxacin

Le Marbofloxacin fait partie d'une famille d'antibiotique appelée les Fluoroquinolones de troisième génération synthétique. Son mécanisme d'action étant l'inhibition de l'enzyme ADN gyrase. L'activité anti-leishmaniose concernerait le TNF-alpha et l'oxyde nitrique. Il n'y a pas d'AMM pour cette molécule, cependant, selon une étude il a été révélé qu'une thérapie à la dose de 2mg/kg, par voie orale, une fois par jour durant vingt-huit jours provoquerait une abolition des signes cliniques.

Une deuxième étude a démontré l'efficacité du Marbofloxacin en 2012 sur ce parasite.

C'est une étude qui a été réalisée sur soixante-quatorze chiens ayant contracté la leishmaniose et qui ont été suivis pendant un an, après avoir été traités selon les recommandations de l'étude précédente. On a pu démontrer grâce à cette étude une correction des symptômes cliniques en cinquante et un jours en moyenne. On constate également une amélioration des signes biochimiques et hématologiques, qui sont liés à un abaissement de la charge parasitaire dans le système sanguin plus tardivement.

Lors d'une utilisation en première intention de la Marbofloxacin chez le chien, il y a une performance de 61% contre 85% pour ceux qui le reçoivent en deuxième intention ou qui sont associés à une autre molécule anti-leishmaniose. Des rechutes sont néanmoins possibles.

Pendant cette étude trois chiens seulement ont montré des effets indésirables dérisoires. Ces effets sont : vomissements, baisse de forme et perte d'appétit. Ils ont vite disparu sans avoir recours à une thérapie, ni un arrêt de la Marbofloxacin. (Martinelli 2013)

2.8.1.5 Pentamidine

La seule molécule disponible est l'isethionate de pentamidine, commercialisée sous l'appellation de Pentacarinat.

Cette molécule est plus particulièrement utilisée en première intention de certaines leishmanioses cutanées pour un traitement de courte durée. L'administration se fait par injection parentérale à la dose de 4mg/kg. Des effets indésirables sont observés de façon immédiate comme les allergies ou les réactions cutanées dues aux perfusions rapides.

Lors d'une suite d'injections, les effets néfastes sont dépendants de la quantité injectée. Ils ont la capacité de toucher les muscles, les reins, les lignées sanguines ou encore le pancréas et ils provoquent des diabètes insulino-dépendant. (Anofel, 2013)

2.8.1.6 Nouvelles pistes

La mise en évidence par une étude, d'un aboutissement très encourageant, pour traiter la leishmaniose canine par **l'Immunomodulateur P-MAPA, (magnesium ammonium phospholinoleate-palmytoleate anhydre)**. Les avantages de ce traitement seront tout d'abord un abaissement de la charge parasitaire au niveau de la peau ainsi qu'un progrès incontestable des signes cliniques puis une orientation de la réponse immunitaire vers une réponse de type cellulaire principalement. Il n'y a pas d'effets secondaires qui sont constatés lors de l'étude chez le chien, ni même de douleur à l'injection. Néanmoins, cette molécule n'a guère d'activité antimicrobienne propre. Il est indispensable de réaliser d'autres études afin de savoir si on peut utiliser cette molécule en association avec les autres habituellement utilisées. La corrélation avec d'autres traitements aurait l'avantage d'abréger les temps de traitements et les mesures utilisées. Elle diminue les effets indésirables et plus particulièrement avec les composés antimoniaux. (Martinelli 2013)

2.8.2 Surveillance et pronostic

Il est indispensable de décrire au propriétaire de l'animal les signes qui annoncent une rechute afin de pouvoir la prévenir. On peut lui décrire : l'abattement, les ulcères cutanés, l'épistaxis, les squamosis. Les recommandations indiquent une visite de contrôle deux fois par an avec un bilan hématologique (numération de formule, biochimie, électrophorèse des protéines), un bilan sérologique avec un procédé quantitatif précis dans le but d'évaluer la valeur en anticorps. Une élévation de la valeur (soit dès que ce dernier dépasse 1/320 ou une élévation de deux dilutions par rapport à la dernière sérologie) peut être appréciée tel un facteur de rechute.

2.8.2.1 *Chez les canins qui ont déclaré la parasitose :*

La quantité d'anticorps prend du temps et les dégradations paracliniques prennent une certaine période à revenir à la normale. Cependant, durant le premier mois on constate un progrès des symptômes cliniques. Un examen clinique complet, un hémogramme, une biochimie et une analyse urinaire doivent être réalisés chez ces chiens-là après avoir arrêté l'antimoniote de méglumine ou après un mois de thérapeutique à l'allopurinol que nous évoquerons plus tard.

Lors d'une rechute, la même thérapeutique devrait être instaurée aussitôt et s'il n'y a pas d'amélioration (ou autres rechutes très rapidement) un traitement alternatif devra être envisagé.

2.8.2.2 *Chez les canins sains n'ayant pas déclaré la parasitose :*

Dans les zones endémiques, il est conseillé de faire des examens de sérologie une à deux fois par an. Les chiens ayant une quantité d'anticorps importante doivent être traités de la même façon que les chiens ayant déclaré la parasitose.

Les chiens qui ont une quantité d'anticorps faible doivent subir des examens réguliers (examen clinique, analyses de laboratoire et sérologie) environ tous les trois à six mois. Ceci afin de pouvoir mettre en place une thérapeutique anticipée en cas de besoins, plus particulièrement en cas d'élévation des anticorps.

La leishmaniose canine n'est pas résolutive spontanément donc le pronostic est généralement mauvais. Il y a régulièrement des récurrences si on n'a pas recouru à un traitement rapidement. Cette maladie évolue souvent vers la mort.

Le pronostic est à nuancer en fonction :

- ❖ Du taux d'anticorps (plus il est élevé, plus le pronostic est exécrable),
- ❖ Du taux d'azotémie (au-dessus de 3g/L, le pronostic est déplorable) et du taux de créatinine (anormal à partir de 14mg/L et très grave à partir de 80mg/L),
- ❖ De la présence ou l'absence de parasites dans la moelle osseuse.

Le chien est porteur du parasite à vie et en cas d'immunodépression ce dernier peut se réactiver (traitement immunosuppresseur ou maladie intercurrente) même si il y a eu traitement et guérison des symptômes dans une précédente infestation. Néanmoins, certains chiens arrivent à se débarrasser entièrement du parasite même si c'est inhabituel et d'autres ne déclarent jamais la maladie.

2.8.3 Traitement Préventif

Comme les canins sont le principal réservoir de parasites pour l'humain, Il est indispensable d'installer des moyens de préventions afin de garantir une protection du chien face à l'infestation contre *Leishmania infantum*. Ces moyens permettent d'éviter une nouvelle contamination des phlébotomes via les repas sanguins sur les chiens infectés. (Martinelli 2013)

2.8.3.1 Prophylaxie sanitaire

Le combat contre les phlébotomes est très rude. En effet, pour restreindre l'exposition des chiens aux phlébotomes, il vaut mieux retenir les canins dans les maisons au cours des activités des vecteurs, c'est-à-dire du crépuscule à l'aurore. Les vecteurs sont très petits et peuvent passer à travers les moustiquaires. Ils sont également plus ou moins endophiles selon les espèces. Ils peuvent donc entrer dans les demeures (surtout *P. perniciosus*). Il est indispensable de traiter les logements ainsi que les niches des chiens et les chenils par l'intermédiaire des insecticides pour les milieux environnants (par exemple : deltaméthrine, organophosphorés en spray ou grâce à des diffuseurs anti-moustiques).

Il est possible de diminuer les micro-habitats bénéfiques à la croissance des phlébotomes au pourtour des zones d'habitats ou des lieux où vivent les canins.

Par exemple : Les tas de fumier ou de déchets organiques, les vieux pneus laissés dans la nature, les fentes dans les murs, les amas de bois ou de pierres.

2.8.3.2 Prophylaxie médicale

2.8.3.2.1 Les antiparasitaires externes

L'utilisation de thérapeutiques cutanées contre les insectes permet de restreindre la transmission aux chiens sains et d'éviter la ré-infestation des phlébotomes par les bêtes infectées. Bon nombre de molécules insecticides ont prouvé leur efficacité sur les vecteurs en tant que répulsif. Cependant les pyrethrinoides sont les plus utilisés à la fois pour leur efficacité et pour leur moindre toxicité pour l'espèce canine (Érythème et prurit légers possibles au site d'application).

La mort du phlébotome intervient dans plus de 98% des situations et dispose d'une activité anti-gorgement dans 85% à 98% des situations selon l'étude. (Martinelli 2013)

Il existe plusieurs formes pour ces insecticides comme évoqué ci-dessous

2.8.3.2.1.1 Les spots-on

Les molécules utilisées dans cette technique sont la perméthrine en association ou non avec l'imidaclopride. Cela garantit une défense puissante à partir de vingt-quatre à quarante-huit heures. Certaines études menées par Miró et al. en 2007, et par Otranto et al. en 2010, ont démontré que la perméthrine à 65% associée à l'imidaclopride à 10% impliquait une réduction de la quantité de morsure par le phlébotome supérieur à 90% en comparaison de chiens n'ayant pas eu de traitement durant une période de 3 semaines. Cependant, l'efficacité au cours de la première semaine après l'application était modérée (entre 13% et 53%). On conseille actuellement d'administrer le spot-on toutes les 3 semaines. On retrouve ces molécules dans l'Advantix.

2.8.3.2.1.2 Les colliers

Les colliers sont imprégnés de deltaméthrine, et certifient une action à partir de la première semaine et durant 5 à 6 mois après la pose. Cela assure une libération lente et prolongée du principe actif.

Il est conseillé de mettre un collier en place chez le chien, une à deux semaines avant d'aller en voyage dans une zone endémique.

Une étude menée par Alvar et al en 2004 a démontré que le port d'un collier imbibé de deltaméthrine assure un effet protecteur (et dévastateur pour le parasite) au cours d'une saison complète de transmission. Notamment par la garantie d'une défense contre la plupart des morsures du vecteur envers les chiens. Cette molécule est retrouvée dans le collier Scalibor.

2.8.3.2.1.3 Les sprays

Les molécules insecticides composés d'icaridine, de perméthrine associées au pyriproxifène, elles ont le privilège d'être actives dès leur application. L'étude de Molina et al. Menée en 2006, nous a prouvé que la perméthrine associée à la pyriproxifène en spray avait un effet répulsif sur les vecteurs (entre 74% et 99% d'efficacité du produit) comparé aux chiens non traités au cours des trois semaines suivant l'application. Durant les deux semaines qui suivent l'application du spray, l'effet insecticide est modéré (entre 29% et 32% d'efficacité du produit). Une fois de plus, il est conseillé de pulvériser toutes les 3 semaines (comme pour les spots-on).

L'emploi de ces insecticides (Autorisation de mise sur le marché AMM pour les phlébotomes) au cours des moments d'activité des vecteurs en zone endémique aiderait à diminuer la rencontre entre les phlébotomes et les réservoirs. En effet, cela implique donc une diminution du nombre de morsure par les phlébotomes, de ce fait il y a réduction du risque de ré-infestation par l'intermédiaire des canins infectés. Cela induit donc une délimitation de la diffusion du parasite chez les chiens. De surcroît, cela aide au contrôle de la leishmaniose chez l'humain. (Martinelli 2013)

2.8.3.2.1.4 Les vaccins

Les mesures de préventions ne sont pas efficaces à 100% néanmoins elles sont tout de même nombreuses chez les chiens.

Il existe de nombreuses études qui ont été mises en place à la fois en laboratoire et sur le terrain dirigées contre diverses leishmanies et chez différentes espèces animales. A l'heure actuelle, il n'existe que quelques vaccins antileishmanien utilisable chez le chien.

Jusqu'alors, beaucoup de vaccins pour chiens ont été élaborés pour la plupart à partir de parasites entiers lyophilisés. Ils se sont avérés d'une faible efficacité. Une équipe du centre de recherche de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) de Montpellier, en collaboration avec la clinique vétérinaire du Rocher et

l'entreprise biopharmaceutique Bio Vêto Test, ont mis au point et testé un nouveau type de vaccin, composé uniquement de protéines excrétées par le parasite. Les premiers essais réalisés ont permis de montrer que celui-ci protégeait totalement et durablement les chiens contre la maladie.

En effet, sur les dix-huit chiens inclus dans l'étude, douze d'entre eux ont reçu un traitement avec des doses croissantes de protéines excrétées par le parasite (soit 50, 100, 200 microgrammes). Ces parasites ont été formulés avec un adjuvant, les six autres chiens concernés ne recevant aucun traitement. Après deux injections à trois semaines d'intervalle, tous les canins ont été infectés avec *L. infantum*. Une surveillance a été mise en place pendant deux années afin d'étudier la progression de la maladie. On a pu constater que 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 ont également étudié les changements immunitaires induits par la vaccination chez les animaux. Des études expérimentales réalisées au laboratoire montrent que l'efficacité du vaccin se manifeste par une activation de certaines cellules du système immunitaire : les lymphocytes T de type Th1. Celles-ci induisent la production, par les macrophages infectés, d'un véritable poison cellulaire nommé l'oxyde nitrique. Ce processus étant inexistant chez les chiens non traités, permet ainsi aux macrophages de se débarrasser des parasites qui les infectent. Les chiens sont alors protégés à long terme contre la leishmaniose viscérale.

Le **vaccin Leishmune®** est utilisé au Brésil, il est accessible pour les vétérinaires depuis 2004. L'avantage de ce vaccin est qu'il peut être utilisé à la fois en préventif et en curatif car il peut être employé chez les canins ayant déjà contracté la parasitose. Son taux de protection est de 92% à 95% selon les études et son efficacité est de 80% (Borja-Cabrera et al, 2002 et Olivera Da Silva et al, 2000). L'élaboration de ce vaccin a été faite grâce à une fraction de protéine de surface de *Leishmania donovani* purifiée (**Fucose Mannose Ligand : FML**) avec comme adjuvant la saponine. (Martinelli, 2013)

Le mécanisme d'action de la vaccination consiste à diminuer ou bloquer l'apparition des symptômes cliniques. Il diminue également le nombre de leishmanie dans le

derme des canins contaminés. Cela induit une baisse de la transmission au phlébotome. Le vaccin stoppe aussi, grâce aux anticorps, les différents stades de croissance des parasites à l'intérieur du vecteur. Ceci permet la régression de leur pouvoir infectant.

Au Brésil, grâce à ce vaccin, la quantité de chien infectés ou ayant déclaré la maladie a réellement baissée. De plus on constate dans ce pays un déclin de l'incidence de la leishmaniose humaine. Cependant, il existe un inconvénient majeur qui est que l'on ne peut pas différencier les chiens malades des chiens vaccinés.

Le Canileish® a obtenu une AMM depuis septembre 2011 en France. L'indication de ce vaccin consiste à immuniser les chiens sains. Ce n'est recommandé seulement pour les canins qui ont eu un test sérologique négatif dirigé vers les formes graves de la maladie. Ce vaccin est formé à partir d'antigènes d'excrétion-sécrétion de promastigotes (AgESP) avec comme adjuvant le QA-21 (composant purifié de la saponine Quil-A). Une fois contaminé, le risque pour un chien en bonne santé de contracter la parasitose serait abaissé de trois ou quatre d'après le fabricant.

Même si la vaccination des chiens ne semble pas leur donner d'effets indésirables, l'AMM ne prend pas en compte la vaccination des canins contaminés par la leishmaniose.

Une étude, qui estime l'influence de la vaccination sur la propagation des leishmanies aux phlébotomes via les chiens contaminés ne nous a pas permis de conclure. En effet, le nombre de chien était trop petit. Néanmoins, on a tout de même pu montrer que les canins contaminés et vaccinés d'une part, et les chiens qui ne sont pas vaccinés d'autre part sont des sources probables de transmission du parasite au vecteur.

Cependant, la quantité de vecteur qui se contamine au contact du premier groupe paraît plus basse, et la charge en parasite chez le phlébotome semble plus faible toujours dans ce premier groupe.

L'immunité débute 4 semaines après la primovaccination et la durée de l'immunité est de 1 an après la dernière vaccination ou le dernier rappel. Au niveau de la posologie : après la reconstitution du lyophilisat avec le solvant, agiter doucement et administrer immédiatement une dose de 1 ml selon le schéma suivant : 1ere injection

à partir de l'âge de 6 mois, deuxième injection 3 semaines plus tard et troisième injection 3 semaines après la deuxième. Il y a un rappel annuel, en effet il faut injecter une dose de vaccin 1 an après la troisième injection et ensuite annuellement. Par ailleurs la voie d'administration par injection se fait en sous cutanée. (Fauchier, 2016)

Les thérapeutiques par voie locale topique consistant à restreindre les piqûres par le vecteur sont donc primordiales même s'il y a eu vaccination. Ceci premièrement, pour préserver les chiens d'une éventuelle infection et deuxièmement, pour diminuer la contagion des phlébotomes. (Martinelli 2013)

La leishmaniose est une maladie qui balaye un grand nombre de traitement à la fois préventif et curatif, cependant d'autres molécules peuvent être utilisées et plus particulièrement une dont nous parlerons dans la troisième partie.

3 L'allopurinol



Photo 6: boîtes de Zyloric et Allopurinol délivrées en pharmacie

3.1 Historique

L'allopurinol fut découvert et étudié en 1958, par Georges Herbert HITCHING, Gertrude Belle ELLION et leurs associés dans les laboratoires de recherches WELLCOME, aux Etats-Unis. Cependant, on l'utilisa pour la thérapeutique qu'à partir de 1964.

Cette trouvaille provient d'un énorme projet de recherche sur la famille chimique des Pyrazolopyrimidine. Au départ, le but était de déceler de nouveaux agents cytostatiques. (Azzoulai, 1985)

A la base, cette molécule était employée comme adjuvant des chimiothérapies antinéoplasiques dont le but était de diminuer l'hyperuricémie, qui elle-même était provoquée par l'hypercatabolisme cellulaire lié aux drogues. Par la suite, on l'emploie souvent dans la thérapeutique de fond de l'hyperuricémie primitive et de ces aggravations (goutte et lithiase urique).

En 1970, Marr et Pfaller révèlent que l'allopurinol a un rôle dans la leishmaniose sur des souches au stade promastigotes de *Leishmania Donovanii* en modèle tumoral macrophagique. (Lyevre, 1995)

De nombreuses études sont menées à bien par Frank et Coll. En 1970 avec « *Crithidia fasciculata* » *trypanosomatidae* existant chez les invertébrés, puis par Marr et Pfaller en 1974 qui les ont élargis aux *kinetoplastidae* qui sont des éléments pathogènes pour l'être humain. Puis avec l'aide du Laboratoire WELLCOME, Marr et Berens en 1977 et 1983 élargissent les études. Ces dernières sont ensuite poursuivies successivement par : Nelson et coll de 1979 à 1980, par Konigk en 1978, par Berens et col en 1980, par Berens et Marr en 1978, 1984, par OMS en 1980, 1982, 1984, par Greenblatt et El-on en 1983, et encore beaucoup d'autres.

Grâce à toutes ces études on a pu confirmer que l'allopurinol est très performant *in vitro* sur les structures de *Leishmania donovani*, *Leishmania mexicana*, et à un niveau plus infime de *L.braziliensis* qui est pathogène sur les cellules des mammifères contaminés par la leishmaniose viscérale et cutanée. (Lyevre, 1995)

Cette molécule fait donc partie de la classe pharmacologique considérable des hypo-uricémiants.

Elle occupe une position majeure dans la prise en charge thérapeutique de la goutte et des autres états d'hyperuricémies. (Azzoulai, 1985)

3.2 Législation et réglementation

L'allopurinol est la Dénomination Commune Internationale (DCI) c'est-à-dire le nom employé dans le monde entier pour ce médicament. Cependant le nom de la spécialité est le Zyloric®. Le Zyloric est initialement fabriqué par le Laboratoire Wellcome (Azzoulai 1985). On l'appelle Zyloric en France et en Europe mais il est commercialisé sous le nom de Zyloprim au Etats unis et au Canada. Enfin les laboratoires STAGO le commercialisent sous le nom d'Epuric® (Lyevre, 1995). Cette molécule est utilisée surtout dans le domaine de la rhumatologie. C'est un médicament liste I « substances vénéneuses » qui sont des médicaments toxiques

dans les conditions normales d'emplois. On utilise des ordonnances simples non renouvelables sauf mention contraire du médecin. On peut le renouveler jusqu'à 12 mois par fraction de 30 jours au maximum. Le taux de remboursement est 65% car c'est un médicament considéré à Service Médical Rendu (SMR) niveau I : majeur et important (Vital durand et al, 2015)

3.3 Molécules chimiques et propriétés physiques

3.3.1 Propriétés chimiques

3.3.1.1 **Généralités**

La molécule d'allopurinol s'appelle chimiquement Hydroxy-4-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine. C'est un dérivé du groupe des bases pyrimidiques, avec un poids moléculaire relatif correspondant à 136.1, et ayant une stabilité dans l'eau et une solubilité légère. (Lyevre, 1995)

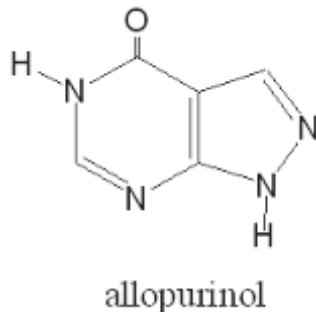


Image 5: Molécule d'allopurinol

La classe chimique de cette molécule est donc des pyrazolopyrimidines. Ce noyau est synthétisé via la fusion de deux hétérocycles contenant chacun deux atomes d'azote :

- ❖ Un noyau pyrimidine hydroxylé en ortho d'un atome d'azote (OH sur le carbone 4)
- ❖ Un noyau pyrazole dont les carbones 3a et 7a font aussi partie intégrante de l'hétérocycle hexagonal. (Azzoulai, 1985)

3.3.1.2 Synthèse chimique

Il existe plusieurs techniques de fabrication de l'allopurinol. On utilise le plus couramment trois techniques qui ont des particularités intéressantes. Une étape est identique pour ces trois procédés, c'est l'ultime étape qui permet d'accéder à la création de l'allopurinol.

Une substance est aperçue le plus souvent dans la fabrication de l'Hydroxy-4-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine. C'est l'amino-3 pyrazolecarboxamide-4.

L'amino-3 pyrazolecarboxamide-4 sous forme d'hémisulfate est réchauffée avec du formamide et aboutit à l'allopurinol.

Le noyau pyrimidine se synthétise par évacuation d'une molécule d'eau et d'une molécule d'ammoniac avec cyclisation.

Les 3 différentes synthèses que nous allons brièvement décrire ne permettent en réalité que la réalisation de l'amino-3 pyrazolecarboxamide-4.

3.3.1.2.1 Première synthèse

C'est la première fabrication de l'allopurinol qui a été faite en 1956 par Roland K. Robins. Cette technique part du malonitrile et de l'orthoformiate d'éthyle pour matière première. Après condensation on obtient l'éthoxyméthylènelononitrile qui, donne après réaction avec de l'hydrazine, de l'amino-3 pyrazole-carbonitrile-4. Cette dernière molécule sous l'action de l'acide sulfurique concentré conduit après hydratation du groupement cyano à l'amino-3 pyrazolecarboxamide-4. Pour terminer, ce carboxamide condensé avec le formamide conduit à l'allopurinol.

Cependant, cette méthode comporte plusieurs inconvénients. On obtient que des produits très impurs qui nécessitent plusieurs recristallisation afin de les purifier. Par exemple l'amino-3 pyrazolecarboxamide-4 nécessite une recristallisation au préalable de la réutilisation pour obtenir l'allopurinol dans de bonnes conditions.

Il y a donc une réduction considérable du rendement, de plus cela provoque des frais industriels. Il y a aussi la possibilité d'avoir des réactions allergiques avec le malononitrile et l'orthoformiate d'éthyle lors d'un contact cutané. On constate donc de nombreux problèmes lors de la synthèse industrielle. Ceci implique, une augmentation importante du coût. Il est donc impératif de trouver une technique plus économique pour la synthèse de cette molécule tout en travaillant dans une atmosphère de pureté et de réactions moins complexes.

La technique est par la suite améliorée afin d'obtenir un meilleur rendement. Au préalable le malonitrile est remplacé par le cyanacétate d'éthyle. Puis, les étapes suivantes sont les mêmes que dans la fabrication précédente. Donc avec l'orthoformiate d'éthyle, on arrive à l' (éthoxy-méthylène) cyanacétate d'éthyle puis via l'hydrazine à l' amino-3 pyrazolecarboxylate-4 d'éthyle qui enfin réagit avec le formamide pour aboutir à l'allopurinol. (Azzoulai, 1985)

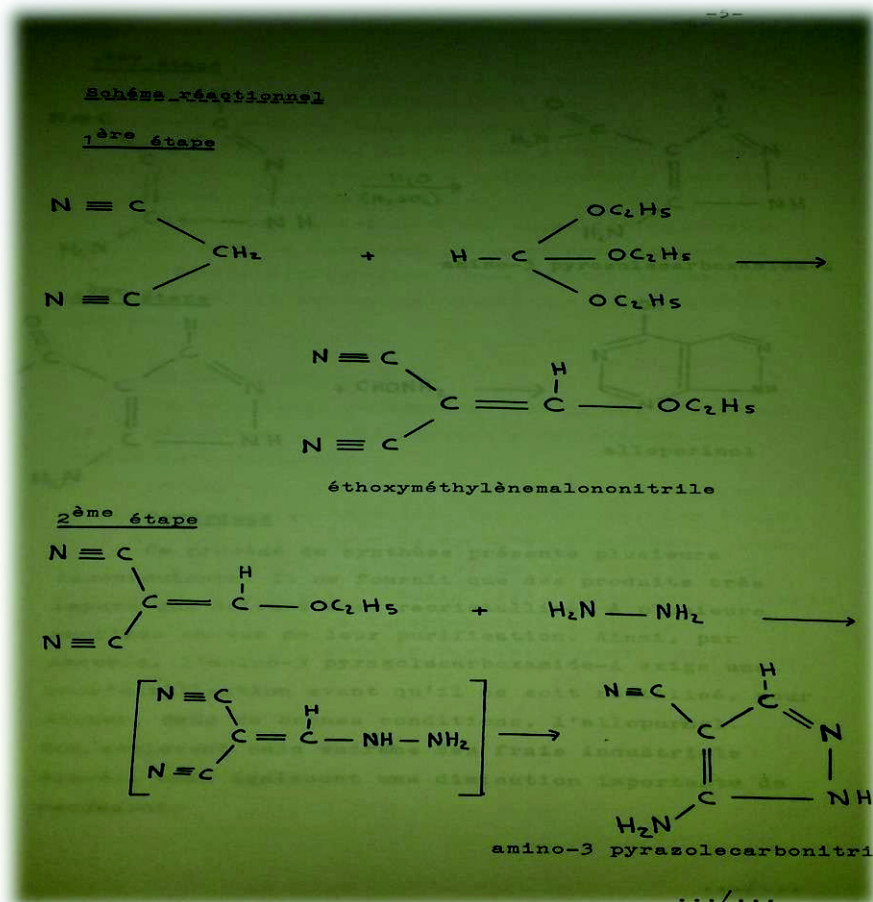


Schéma 3 : Schéma réactionnel du premier type de synthèse de l'Allopurinol étape 1 et 2

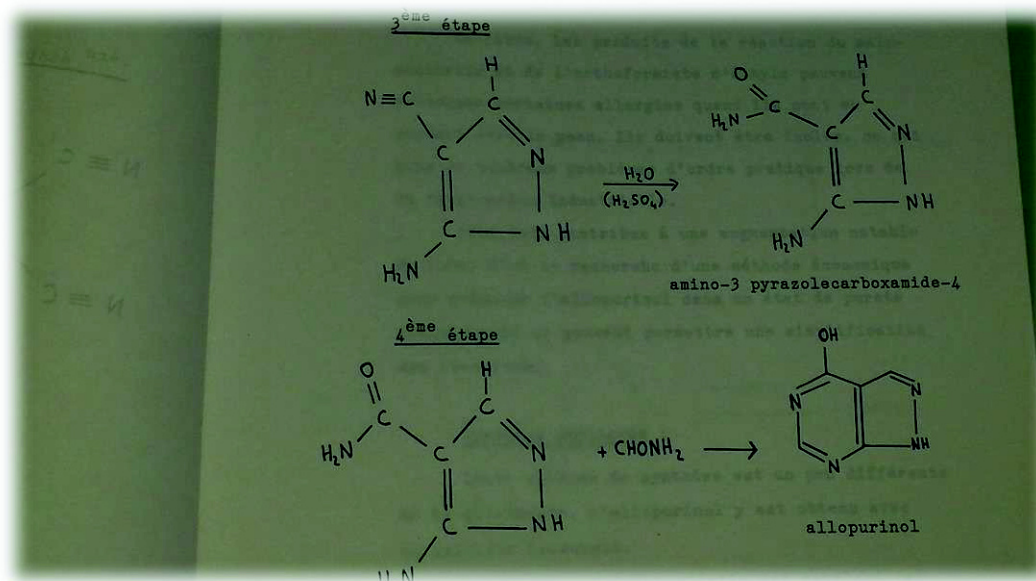


Schéma 4: Schéma réactionnel du premier type de synthèse de l'Allopurinol étape 3 et 4

3.3.1.2.2 Deuxième synthèse

On part du formamidine avec de l'acide chlorhydrique et du cyanacétamide comme matières premières. On arrive à l'amino-3 cyano-2 acrylamide qui lui réagit avec l'hydrazine pour synthétiser l'amino-3 pyrazolecarboxamide-4 qui donnera ensuite l'allopurinol.

La première étape concerne la fabrication de l'amino-3 cyano-2 acrylamide. Ce produit est issu de la réaction entre la formamidine et le cyanacétamide. Il peut cependant être fabriqué par une autre voie. Cette réaction est avantageuse car elle est très rapide, elle se produit en dessous de la température ambiante, et a des proportions stoechiométriques des deux réactifs. La vitesse et l'équilibre de la réaction permettent à parler d'un processus ionique. Ces formes ioniques contribuent au déroulement de la réaction puisque l'énergie d'activation est basse. Il y a alors formation de l'amino-3 cyano-2 acrylamide avec dégagement d'une molécule d'ammoniac.

Le solvant utilisé est soit l'eau, soit l'alcool (méthanol, propanol, éthanol, butanol) ou encore un mélange des deux. Le choix du solvant conditionne la vitesse de la

réaction et la durée complète de cette dernière. La réaction est exothermique dans l'eau et à vitesse élevée. Cependant, l'alcool est le solvant de choix car la pureté est préférable.

La deuxième étape intéresse l' amino-3 cyano-2 acrylamide qui est fabriqué juste avant et qui réagit avec l'hydrazine pour donner naissance à l' amino-3 pyrazolecarboxamide-4 sous la forme de sulfate. On rajoute par la suite dans le mélange refroidi un acide minéral tel que l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique. Et on arrive donc au sel du carboxamide.

On ne constate pas de réduction du rendement due à l'isolement de produits intermédiaires. Cependant, il y a un avantage incontestable qui est la diminution des frais d'appareillages.

On peut déduire que cette deuxième méthode de synthèse de l'allopurinol est plus économique que la première. De plus, il n'est pas essentiel d'isoler l' amino-3 cyano-2 acrylamide et l'allopurinol est obtenu avec un bon rendement. (Azzoulai, 1985)

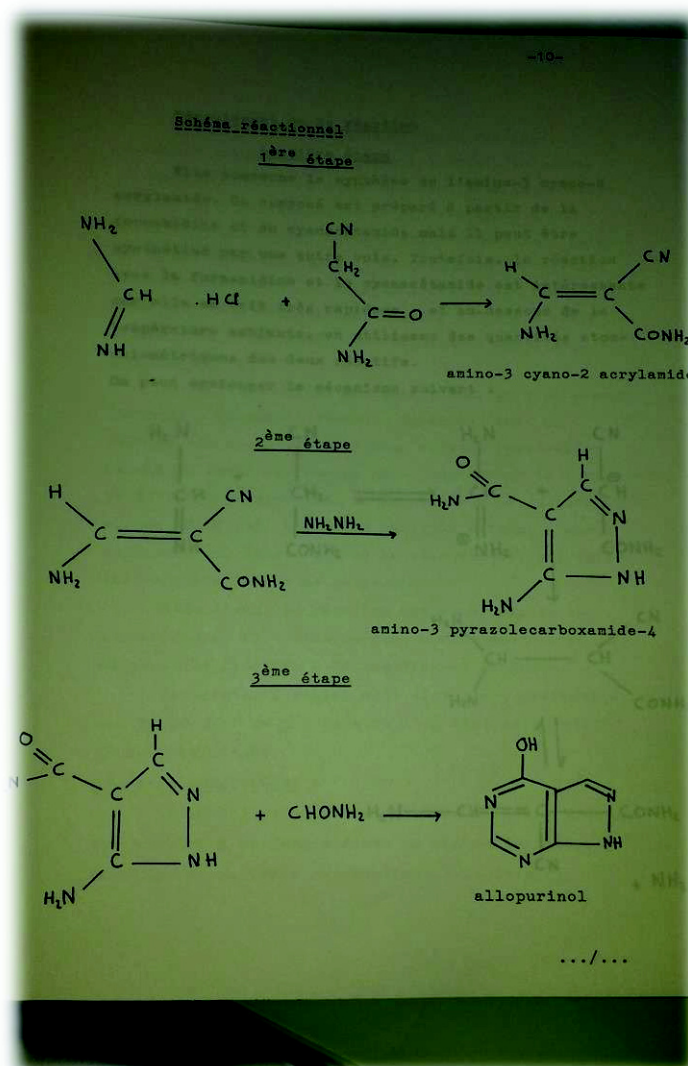


Schéma 5: Schéma réactionnel de la deuxième synthèse possible de l'Allopurinol

3.3.1.2.3 Troisième synthèse

Dans cette technique, l'allopurinol est synthétisée via du cyanacétamide, de l'orthoformiate d'éthyle et de la morpholine. Grâce à ces composés on arrive au morpholino-3 cyano-2 acrylamide. Cette dernière molécule entre en réaction avec de l'hydrazine comme dans la deuxième synthèse. Puis on obtient de l'amino-3 pyrazole-carboxamide-4 qui se transforme en allopurinol via du formiate.

L'avantage d'utiliser de la morpholine est que cette molécule à une faible basicité et elle ne catalyse pas ou peu la réaction. De plus, aucun dérivé coloré ne se forme et ce n'est pas un composé aromatique.

On peut donc en déduire que la morpholino-3 cyano-2 acrylamide peut être isolée dans un état de pureté satisfaisant grâce à ces propriétés physiques. Il n'est pas obligatoire qu'une recristallisation arrive au cours de la fabrication. On gagne à la fin un bon rendement d'allopurinol.

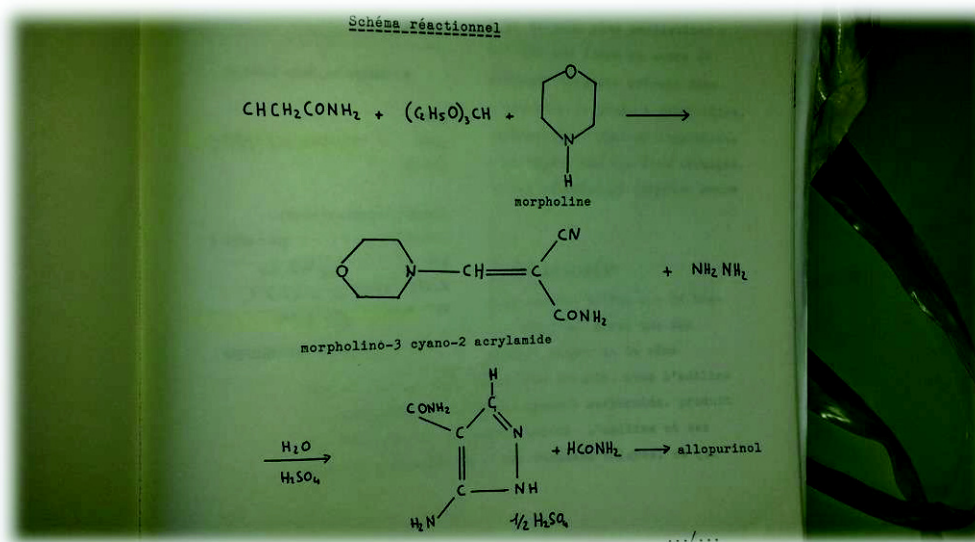


Schéma 6: Schéma réactionnel de la troisième synthèse possible de l'Allopurinol

De nos jours, c'est cette dernière méthode qui est utilisée dans les laboratoires Wellcome. (Azzoulai, 1985)

3.3.2 Propriétés physiques

3.3.2.1 **Solubilité**

L'allopurinol se dissout très peu dans l'eau et l'alcool à 95°. Il est insoluble dans le chloroforme, l'éther et les solvants organiques courants. Cependant, il est soluble dans les solutions d'hydroxydes alcalins.

La solubilité de l'allopurinol à 25°

Tableau 3: la solubilité de l'allopurinol à 25°C

<u>Solvant</u>	<u>Solubilité (mg/ml)</u>
Eau	0.48
octanol	0.01
chloroforme	0.60
éthanol	0.30
DMSO	4.6

3.3.2.2 Caractères organoleptiques

L'allopurinol est une poudre blanche, d'odeur faible, microcristalline.

3.3.2.3 Limpidité

La solution à 1 % dans l'hydroxyde de sodium est limpide et jaune pâle.

3.3.2.4 Point de fusion

Le point de fusion de l'allopurinol est au-dessus de 350°C.

3.3.2.5 Perte à la dessiccation

La perte à la dessiccation est réalisée à 105°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Celle-ci ne doit pas être supérieure à 0.5%.

3.3.2.6 Méthodes d'identification

3.3.2.6.1 Iodomercurate de potassium

Dissolution de 50mg de produit dans 5 ml de NaOH dilué. On rajoute 1 ml de solution d'iodomercurate de potassium. Puis, on chauffe et on maintient à ébullition jusqu'à observation d'un précipité jaune floconneux.

3.3.2.6.2 Réaction colorée

Agitation de quelques milligrammes d'allopurinol avec 5 ml de soude 0.1 N. Puis, on complète avec 3 ml du réactif de FOLIN-CIOCALTEU et 5 ml d'une solution de carbonate de sodium à 20%. On obtient alors une coloration gris-bleu.

3.3.2.6.3 Propriétés spectrales

3.3.2.6.3.1 Spectre Infra-Rouge

Selon la fréquence de vibration on peut voir les structures chimiques correspondantes. Par exemple à 3060 cm^{-1} on obtient les vibrations correspondant au CH du noyau pyrimidine. (Azzoulai, 1985)

3.3.2.6.3.2 Spectre Ultra-violet

Le spectrophotomètre de BECKMAN ACTA II ci-dessous a donné le spectre ultra-violet de l'allopurinol.

Le protocole de la solution est le suivant : dissoudre 100 mg de produit dans 10 ml de solution de soude à 0.1 N dans une fiole jaugée de 100 ml.

Remplir jusqu'au trait de jauge avec de l'eau et diluer au centième avec de l'HCl à 0.1 N. L'enregistrement du spectre se fait entre 230 nm et 350 nm sous une épaisseur de 1 cm. Il est impératif d'apercevoir un maximum à 250 nm environ et un minimum à environ 231 nm. (Azzoulai, 1985)

Le rapport de l'extinction à 231 nm à celle à 250 nm doit être entre 0,52 et 0,60.

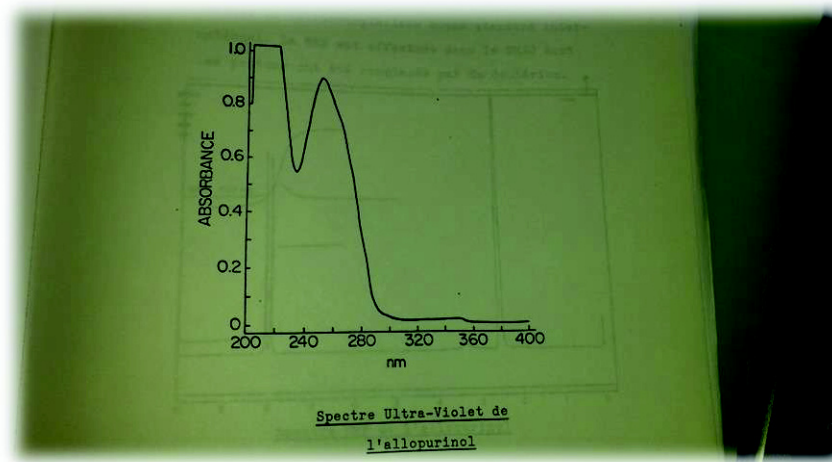


Schéma 7: Spectre Ultra-Violet de l'Allopurinol

3.3.2.6.3.3 Spectre RMN

La RMN est la résonance magnétique nucléaire réalisée sur un spectrophotomètre VARIAN. Le standard international utilisé est le tétraméthysilane. La RMN se fait dans le DMSO (diméthylsulfoxyde) dans lesquels les protons sont remplacés par du Deutérium.

Les spectres de RMN sont associés à un système de lettres. Chaque lettre de ce système est attribuée à un proton de la molécule.

3.3.2.6.3.4 Méthodes d'analyse

- ✓ Polarographie
- ✓ Chromatographie
 - Chromatographie sur papier
 - Chromatographie sur colonne échangeuse d'ions

- Chromatographie liquide à haute performance

✓ Spectrophotométrie

Ce dosage est fait dans le domaine de l'UV. Une partie du produit est introduite dans de la soude. Puis, à l'aide de l'acide chlorhydrique dilué on pratique une dilution jusqu'à obtention d'une concentration de 10µg/ml. On compare ensuite cette préparation à une solution étalon à 250 nm dans le but de découvrir la pureté de l'allopurinol.

3.3.2.7 Coefficient de partage

Pour l'allopurinol le coefficient de partage à 25°C est de 0,24 à pH 1,2 pour l'éthanol et l'eau. Il est de 0,33 à pH 6 également entre l'éthanol et l'eau toujours à 25°C

3.3.2.8 Stabilité

L' amino-3 pyrazole-carboxamide-4 est le composé obtenu en premier via la décomposition en solution acide et basique.

En effet, en milieu basique, il se décompose en acide amino-3 pyrazolecarboxylique-4 et en amino-3 pyrazole. Cependant, cet acide carboxylique, ne sera pas formé en milieu acide.

La meilleure stabilité de l'allopurinol à 105°C est obtenue entre Ph 3,1-3,4.

A 25°C, le temps de vie d'une suspension d'allopurinol à 2% est de 5,4 années à pH 9,5. (Azzoulai, 1985)

3.4 Formulation galénique

La forme galénique de ce médicament est un comprimé sécable à 100 mg. Sa constitution en excipient est : lactose, polyvidone, amidon de maïs, stéarate de magnésium. Sa solubilité est de 80 mg/dl dans de l'eau à 37 degrés centigrade, et elle est encore au-dessus en solution saline. (Lyevre, 1995)

3.5 Propriétés

3.5.1 Pharmacologiques

L'allopurinol est un analogue de l'hypoxanthine et un urico-frénateur. Il agit dans le catabolisme des bases puriques : **adénine** et **guanine** et pas dans la synthèse *de novo*, c'est la raison pour laquelle ce mécanisme est mieux supporté que les inhibiteurs de synthèse.

A faible mesure, l'allopurinol possède à la fois un rôle de substrat et est un inhibiteur compétitif de la xanthine oxydase. Cependant à quantité plus élevée, il se transforme en inhibiteur non compétitif.

Cette molécule est métamorphosée via la xanthine oxydase en alloxanthine ou oxypurinol qui est également un inhibiteur non compétitif de la xanthine oxydase. (Bousselier, 2008)

Cette molécule a donc des propriétés hypo-uricémiantes qui diminuent l'uricémie et l'uraturie tout en diminuant la fabrication de l'acide urique, par inhibition de la xanthine-oxydase. (Vital Durand et al, 2015)

En effet, l'allopurinol fixe la xanthine oxydase avec une affinité vingt fois au-dessus de celle du substrat naturel. Comme dit précédemment cette molécule se transforme en oxypurinol (alloxanthine), qui est également inhibiteur de la xanthine oxydase. De plus, il y a aussi une inhibition de la même enzyme mais au niveau de la réaction d'oxydation de la mercaptopurine (Purinéthol) qui est employée en chimiothérapie anticancéreuse. Cette enzyme aide au métabolisme d'un analogue soufré de

l'hypoxanthine en acide 6-thiourique. Une diminution en valeur absolue de 75% peut être atteinte par cette réaction d'inhibition de la mercaptopurine. (Lyevre, 1995)

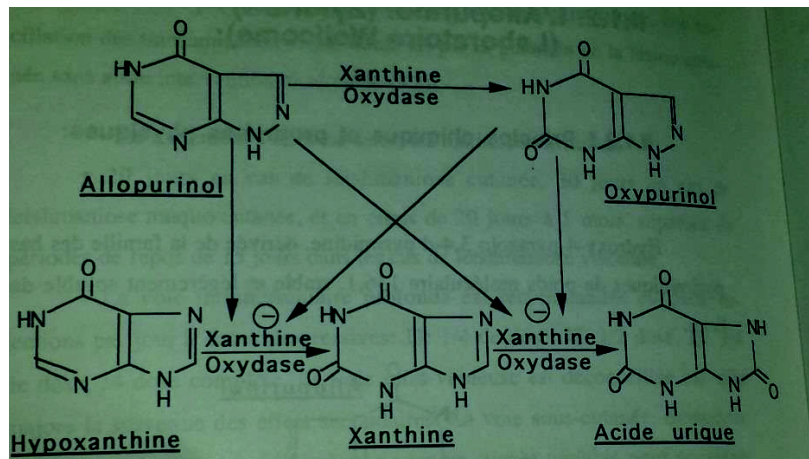


Schéma 8 : mécanisme chimique de l'inhibition de la xanthine-oxydase à visée hypo-uricémiante par l'allopurinol chez l'homme

Nous allons développer ci-dessous les principales actions de l'allopurinol plus en détail.

3.5.1.1 Production de l'acide urique

Le dernier composé du métabolisme des purines est la xanthine qui résulte de la ration alimentaire et de la biosynthèse. Le composé précédant l'acide urique est la xanthine, qui elle-même provient de l'hypoxanthine. L'allopurinol est un analogue de la structure de l'hypoxanthine. L'action hypo-uricémiante sert en premier lieu à inhiber la xanthine oxydase qui a pour rôle de transformer via une oxydation l'hypoxanthine et la xanthine en acide urique.

L'intensité de fixation de l'allopurinol à la xanthine oxydase est 20 fois supérieure par rapport à la fixation des autres substrats naturels : l'hypoxanthine et la xanthine. Indépendamment du fait que l'allopurinol soit un inhibiteur compétitif, c'est également un substrat pour la xanthine oxydase, qui le transforme en oxypurinol ou dihydroxy-4,6 pyrazolo(3,4-d)pyrimidine.

Cette oxypurinol est également un inhibiteur de la xanthine oxydase comme l'allopurinol.

La fabrication d'acide urique est réduite par l'allopurinol, son activité inhibitrice est plus élevée sur la xanthine oxydase que sur l'oxypurinol. L'oxypurinol formera doucement un complexe réversible qui a une constante de dissociation égale à $5 \cdot 10^{-10}$ M.

3.5.1.2 Synthèse des purines

Deux études ont été menées :

- La première a été faite chez l'animal, qui visait à évaluer l'effet de l'allopurinol sur l'absorption et sur l'excrétion des purines chez le porc en utilisant une dose de 150 mg/kg/j.
- La deuxième étude a été faite *in vitro* sur des cellules en culture. Il s'agissait d'étudier le mécanisme inhibiteur de l'allopurinol sur la bio fabrication des purines sur différents types de cellules :
 - Tout d'abord des cellules d'hépatome de rat en culture : il y a également inhibition du développement des cellules.
 - Les fibroblastes humains en culture : l'allopurinol diminue la biosynthèse quand il n'y a pas de xanthine oxydase. Pour de faible concentration, l'effet inhibiteur de l'allopurinol ne se révèle que lorsque cette molécule est sous la forme ribonucléotide.
 - Les cellules leucémiques et cellules de BURKITT
 - Les cultures de champignons : *Neurospora crassa* (Azzoulai, 1985)

On envisage que la diminution de la synthèse des purines *de novo* serait causée par le mécanisme inhibiteur d'un nucléotide d'allopurinol sur la première enzyme qui agit dans la fabrication des purines : la glutamophosphoribosyl amido-transferase.

Néanmoins, on constate que la proportion de ribonucléotide d'allopurinol formée est trop petite pour être l'auteur d'une telle inhibition.

L'abaissement de la synthèse des purines *de novo* que l'on constate sous allopurinol est surtout dû à une réutilisation d'une partie des oxypurines (hypoxanthine et xanthine), qui n'est pas délabrée en acide urique à cause de l'inhibition de la xanthine, pour la reconstitution des nucléotides puriniques correspondant. Cela aboutit à un contrôle de la bio fabrication des purines par une action d'inhibition par rétroaction normale.

3.5.1.3 Biosynthèse des pyrimidines

Au niveau des cellules de culture et plus précisément dans des fibroblastes humains en culture, il y a eu une étude de l'effet de l'allopurinol sur le métabolisme des pyrimidines. L'allopurinol est donc un inhibiteur de la synthèse des bases pyrimidiques et il augmente par conséquent l'évacuation urinaire de l'acide orotique et de l'orotidine. (Azzoulai, 1985)

Les actions secondaires de l'allopurinol sont détaillées ci-dessous :

3.5.1.4 Mécanisme sur le métabolisme du tryptophane

L'allopurinol élève légèrement le taux de tryptophane cérébral après une dose de charge de tryptophane. Lorsque cette molécule est associée avec des antidépresseurs dérivés du tryptophane, elle peut limiter le métabolisme de l'antidépresseur, et par conséquent augmenter son activité thérapeutique. C'est une hypothèse qui a été vérifiée par une étude.

3.5.1.5 Action sur des organes en ischémie provoquée

3.5.1.5.1 Ischémie rénale

Grâce à une étude faite chez l'animal on a pu constater que, lors d'ischémie rénale provoquée, l'utilisation de l'allopurinol avait un rôle protecteur.

En effet, des concentrations tissulaires élevées d'ATP, d'ADP et d'AMP sont préservées chez les animaux traités avec l'allopurinol par rapport aux animaux témoins.

3.5.1.5.2 Ischémie pulmonaire

Le poumon en ischémie peut être gardé en survie par l'allopurinol lorsqu'il est associé à l'adénosine.

3.5.1.5.3 Ischémie myocardique

Chez l'animal dont l'artère coronaire a été ligaturée, l'allopurinol élève la contractilité myocardique et le débit cardiaque. Il peut induire des adaptations électrocardiographiques du segment S-T d'origine ischémique et des effets antiarythmiques prolongés. (Azzoulai, 1985)

3.5.1.6 Action sur le choc hémorragique

En pré-traitement, l'allopurinol élève de 6 fois la proportion de survie des chiens en choc hémorragique. Cependant, s'il est donné à la suite d'un choc hémorragique, il n'agit pas en prévention des effets irréversibles de l'hémorragie. Mais si on associe au traitement par l'allopurinol de l'hypoxanthine qui comble le catabolisme de l'hypoxanthine, l'animal aura une chance de survie augmentée. Le fait que le choc

hémorragique soit irréversible est lié avec la perte des bases puriques, qui seules aident à la réparation de l'ATP cellulaire.

3.5.1.7 Action sur le stockage d'organe

- ❖ L'allopurinol a un effet protecteur sur le segment pancréatico-duodéal
- ❖ Avant la transplantation, il a une action préservatrice durant le stockage du rein
- ❖ Si l'allopurinol est ajouté à la perfusion de la fraction cryoprecipitée plasmatique alors il a un effet bienfaisant sur la transplantation de l'intestin grêle.

3.5.1.8 Action antiparasitaire

L'allopurinol dispose d'un mécanisme antiparasitaire sur :

- Les *Leishmania*
- Le *Plasmodium* : En baissant la longueur du cycle asexué du plasmodium
- Le *Trypanosoma cruzi*

3.5.2 Pharmacocinétiques

3.5.2.1 L'absorption

3.5.2.1.1 Voie orale

L'allopurinol a une absorption très rapide par voie orale et est aperçu dans le plasma au bout de 30 à 60 min. La biodisponibilité est environ de 80%. On récupère les 20% de la dose donnée par la voie orale dans les selles au bout de 48 à 72h. On constate une grande variation de la concentration sérique d'une personne à l'autre.

Après une administration par voie orale d'allopurinol, l'atteinte du pic plasmatique est faite entre 2h et 3h.

Après une dose orale de 300 mg d'allopurinol, on note que les concentrations sériques maximales sont de 5,24µg/ml d'allopurinol et de 3,78µg/ml d'oxypurinol au bout de 24h.

L'allopurinol est un substrat aussi efficace qu'un inhibiteur de la xanthine oxydase.

Les patients à qui on administre de l'allopurinol de façon chronique, ont des proportions plasmatiques d'oxypurinol qui peuvent en principe inhiber la métabolisation d'allopurinol en oxypurinol.

Cependant, cette inhibition détériore la cinétique du médicament et donne une explication sur la grande fluctuation des concentrations. (Azzoulai, 1985)

3.5.2.1.2 Voie injectable

Une perfusion intraveineuse de 100 à 300 mg d'allopurinol (1,1 à 5,3 mg/kg) est administrée. En quelques minutes les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes. Après une perfusion de 100 à 300 mg de cette molécule, les concentrations atteignent à peu près $3 \cdot 10^{-6}$ M et $3 \cdot 10^{-5}$ M.

A posteriori, d'une administration orale ou intraveineuse ces concentrations plasmatiques sont environ les mêmes. (Azzoulai, 1985)

Environ 90% de l'absorption de l'allopurinol est faite au niveau du tractus gastro-intestinal. (Lyevre, 1995)

3.5.2.2 La distribution

L'allopurinol est métabolisé en oxypurinol, ces deux molécules se répartissent de façon égale dans tous les tissus sauf dans le cerveau dans lequel la

concentration recueillit est à peu près la moitié de celle des autres tissus. (Azzoulai, 1985)

3.5.2.3 La métabolisation

In vivo, l'allopurinol est très vite oxydé en oxypurinol (dihydroxy-4,6 pyrazolopyrimidine).

Lorsqu'on administre de l'allopurinol marqué au carbone-14, on constate six heures après que toute la radioactivité que l'on récupère dans les urines a été métabolisée en oxypurinol.

En effet, l'allopurinol a pour métabolite principal l'oxypurinol. 60% sont métabolisés en oxypurinol lorsqu'au préalable une dose unique d'allopurinol a été absorbée.

La demie-vie plasmatique de l'allopurinol est environ de 40 min alors que celle de l'oxypurinol est beaucoup plus élevée et va de 17 à 30h.

Le fait que la transformation de l'allopurinol en son dérivé oxydé est très vive explique la faible demie-vie plasmatique de ce dernier.

Grâce à la longue durée de vie de l'oxypurinol, l'inhibition de la xanthine oxydase est maintenue même après élimination de l'allopurinol.

Donc, on peut déduire que l'oxypurinol peut être utilisé pour le traitement de l'hyperuricémie comme l'allopurinol. Néanmoins, il a une moins bonne absorption que l'allopurinol et la posologie à donner est à peu près le double afin d'avoir une inhibition identique à la xanthine oxydase. On observe également que l'allopurinol et l'oxypurinol sont légèrement liés aux protéines plasmatiques. Cependant ils sont considérablement liés à la xanthine oxydase soit, $7 \cdot 10^{-7}$ et $6 \cdot 10^{-8}$ respectivement.

Lorsque la xanthine oxydase est réduite, les constantes de liaison de l'allopurinol et de l'oxypurinol sont sensiblement accrues. La voie principale est lorsque l'allopurinol est métabolisé en oxypurinol via la xanthine oxydase. Cependant il existe d'autres voies métaboliques qui n'utilisent pas le mécanisme de l'oxydation par la xanthine oxydase.

On peut mettre en avant deux autres mécanismes probables :

- ❖ Une voie métabolique pourrait métaboliser l'allopurinol en un ribonucléotide qui ensuite pourrait être oxydé en oxypurinol ribonucléotide avec la production d'oxypurinol via de l'oxypurinol nucléotide.
- ❖ Une autre voie plus considérable que la précédente, consisterait en une réaction d'oxydation de l'allopurinol en oxypurinol via de l'aldéhyde oxydase à la place de la xanthine oxydase.

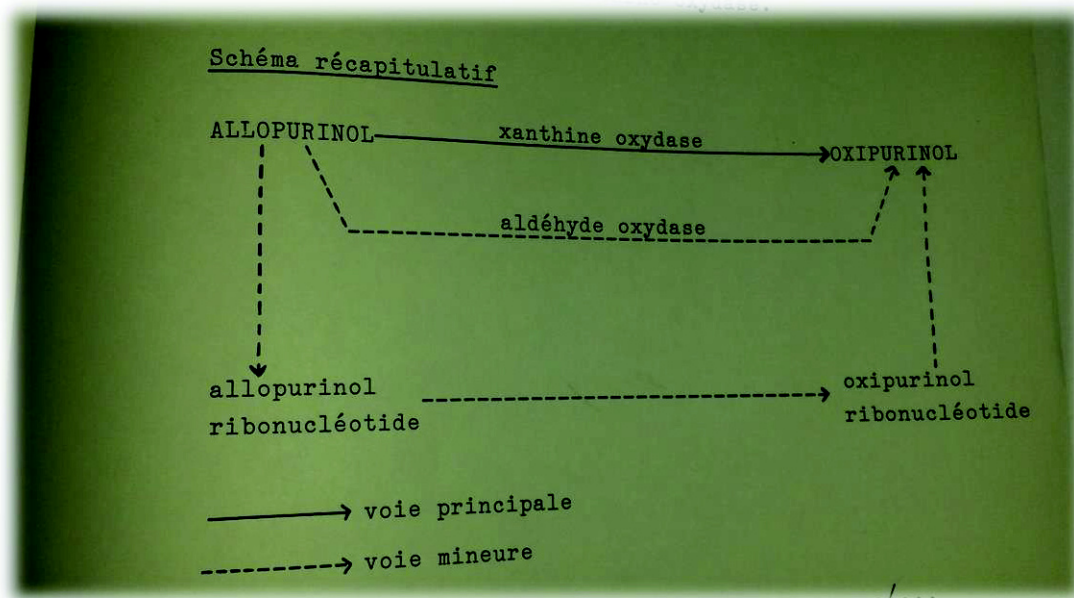


Schéma 9 : Schéma récapitulatif du métabolisme de l'Allopurinol

Il est possible de trouver six autres métabolites de l'allopurinol, sous la forme de ribonucléosides et de ribonucléotides d'allopurinol et d'oxypurinol.

L'oxypurinol est le métabolite majeur puis vient après l'allopurinol-1 ribonucléoside. Présent à de très faibles concentrations ils ne sont pas introduits dans les acides nucléiques et n'ont par ailleurs aucune activité inhibitrice sur la xanthine oxydase. (Azzoulai, 1985)

3.5.2.4 L'Élimination

L'allopurinol absorbé est complètement éliminé dans les urines, soit sous une forme inchangée ou métabolisée. Donc l'élimination urinaire est la voie majeure d'excrétion du produit. (Lyevre, 1995)

En 24h, l'évacuation urinaire de l'allopurinol sous forme inchangée est inférieure à 10% et celle de l'oxypurinol est à peu près à 50%.

La clairance rénale de l'allopurinol est de 13,6 ml/min alors que celle de l'oxypurinol peut aller jusqu'à 30,6 ml/min. (Azzoulai, 1985)

L'élimination de l'oxypurinol par le rein suit un schéma identique à celui de l'acide urique.

Il y a filtration par le glomérule, puis réabsorption pratiquement complètement par le tube contourné proximal et enfin sécrétion pour environ 10% par le tube contourné distal.

La clairance de l'oxypurinol vaut approximativement 15% de la proportion de filtration glomérulaire, autrement dit à peu près trois fois plus que la clairance de l'acide urique.

La grandeur de la demie-vie de l'oxypurinol est expliquée par le fait que le tubule rénal peut réabsorber l'oxypurinol. (Azzoulai, 1985)

Cette excrétion est majorée par les autres uricosuriques (et diminue donc l'activité médicamenteuse).

Les autres médicaments uricosuriques comme le probenécide élèvent la clairance rénale de l'oxypurinol. Les médicaments uricosuriques qui inhibent la réabsorption tubulaire de l'acide urique, inhibent aussi la réabsorption tubulaire de l'oxypurinol et élève sa clairance. (Azzoulai, 1985)

3.6 Indications

Les différentes indications de l'allopurinol sont :

- Le traitement de la goutte
- L'hyperuricémie symptomatique secondaire (hémopathies, néphropathies, hyperuricémies iatrogènes)
- Traitement et prévention des lithiases urinaires uratiques
- Prévention et récides de lithiases calciques qui surviennent chez les personnes ayant une hyperuricémie et /ou une hyperuraturie

Il faut savoir que les hyperuricémies sans symptômes ne font pas parties des indications. (Vital et Durand et al, 2015)

L'usage thérapeutique actuel de l'allopurinol concerne surtout :

- le traitement de la goutte
- le traitement et prévention des lithiases uriques
- La leishmaniose canine (traitée dans la prochaine partie)
- Le Traitement de l'insuffisance cardiaque (Bousselier, 2008)

Tout d'abord concernant le traitement de la **goutte** :

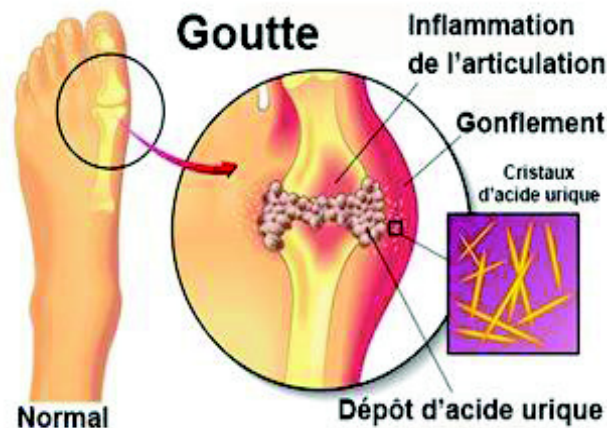
La goutte a des symptômes d'arthrites aiguës récidivantes et d'infiltration uratique des tissus qui s'accroissent doucement. En l'absence de thérapeutique, cette infiltration qui fabrique des dépôts d'urate de sodium que l'on peut apercevoir sous la peau, induit une dégradation articulaire puis détruit la fonction rénale.

Lorsque la concentration plasmatique d'acide urique est supérieure à 420 micromoles/L chez l'homme et 360 micromoles/L chez la femme, on peut parler d'hyperuricémie.

Le traitement et prévention des **lithiases** :

Par l'intermédiaire de la xanthine oxydase, le catabolisme des bases puriques parvient à l'élaboration d'acide urique. Chez la plupart des mammifères il y a une enzyme hépatique qui est l'**uricase**. Elle aide la majorité de leur acide urique à

s'oxyder en allantoïne. Ce catabolite est beaucoup soluble dans l'eau et pourra être aisément évacué dans les urines contrairement à l'acide urique. Chez l'homme, l'acide urique est le produit final car il ne possède pas d'uricase et chez le Dalmatien, seulement une petite dose d'acide urique est oxydée en allantoïne. Chez cette race de canin, l'évacuation d'urate de sodium dans les urines est plus grande, donc le risque de formation de lithiases uriques est plus élevé. (Bousselier, 2008)



Images 6 : comparaison entre une articulation saine et une arthrite goutteuse

3.6.1 Les hyperuricémies et hyperuraturies

Elles ont la possibilité d'être à l'origine de lithiases uriques et constituent des risques de récurrences des lithiases oxalo et phospho-calciques.

Grâce à l'allopurinol la proportion d'urates est diminuée dans l'organisme, lorsqu'une proportion très élevée est atteinte à cause d'un déséquilibre entre la synthèse et l'évacuation de l'acide urique.

3.6.2 Hyperuricémies primitives et secondaires

3.6.2.1 En hématologie

On emploie l'allopurinol pendant les hémopathies (polyglobulies essentielles, leucémies myéloïdes, splénomégalies myéloïdes, myélomes...). On peut également

utiliser l'allopurinol au cours du traitement cytolytique et cortisonique des leucémies pendant lequel une hyperuricémie très haute peut aboutir à la névropathie aigue anurique.

3.6.2.2 *En cardiologie*

L'allopurinol peut être utilisé combiné à des antihypertenseurs. De plus l'hyperuricémie est considérée la plupart du temps comme un facteur de risque de l'infarctus du myocarde.

3.6.2.3 *En néphrologie*

Cette molécule peut également être utilisée lorsque qu'un patient est atteint d'une insuffisance rénale chronique, dans quelques malformations rénale (polykystoses rénale ou dans quelques uropathies avec pyélonéphrite chronique. L'allopurinol est notamment utilisé dans les néphropathies saturnines, les intoxications au béryllium et dans les néphropathies gravidiques.

3.6.2.4 *Origine iatrogène*

On peut utiliser l'allopurinol lors de thérapeutiques utilisant les diurétiques de façon prolongée. Comme les diurétiques thiazidiques, furosémide, acide étacryniques.

On peut également l'utiliser pendant les traitements utilisant l'Ethambutol ou les salicylés à doses faibles.

3.6.3 Indications secondaires

Au cours de chimiothérapies par Mercapto-6 purine et l'Azathioprine on peut utiliser l'allopurinol.

Cette molécule a pour objectif d'augmenter les effets de ces chimiothérapies.

Certes, la xanthine oxydase métabolise ces deux chimiothérapies en deux produits acides thio-6 uriques qui sont deux métabolites inactifs. L'allopurinol lorsqu'elle inhibe la xanthine oxydase, elle empêche cette métabolisation. (Azzoulai, 1985)

Le traitement de l'insuffisance cardiaque :

L'allopurinol a un rôle sur la contractilité du myocarde. En effet, lors d'insuffisance cardiaque, la capacité de contraction du ventricule gauche diminue ce qui provoque des variations sur les indices de contractilité : $(dP/dt)_{max}$, Ees, Msw. Ces indices vont tous baisser de manière incontestable au cours d'une insuffisance cardiaque.

Selon l'étude de Ekelund et al, l'allopurinol induit une élévation typique de l'indice $(dP/dt)_{max}$. Pendant cette expérience, Ekelund et al ont employé des stimulateurs cardiaques pour induire une insuffisance cardiaque chez des canins mâles de 20 à 30 kg en leur appliquant une fréquence cardiaque de 210 battements par minutes au cours d'une période de 3 semaines puis 240 battements par minute pendant une semaine. Ekelund et al ont par la suite, chez les chiens de contrôle et les insuffisants cardiaques, infusés dans l'atrium droit 200 mg d'allopurinol dilué dans 100 ml de solution saline à un débit de 3,3 ml par minute.

Des mesures hémodynamiques et énergétiques ont ensuite été exécutées à T_0 (début de l'infusion) puis toutes les 10 minutes pendant l'infusion et enfin dix et vingt minutes après la fin de celle-ci.

Chez les canins de contrôle cette élévation est de $8.3 \pm 3.2\%$ au pic de réponse c'est à dire 10 minutes après la fin de l'infusion d'allopurinol. Chez les chiens insuffisants cardiaques, cette hausse est beaucoup plus considérable. En effet, l'indice $(dP/dt)_{max}$ s'élève de $24.4 \pm 8.7\%$ 10 minutes après la fin de l'infusion. (Bousselier, 2008)

L'allopurinol a également un rôle sur le remodelage myocardique via une expérience Engberding et al, qui a confronté le remodelage du ventricule gauche chez un rat avec un témoin et échantillon auxquels on administre de l'allopurinol.

Un traitement de 30 jours à 20 mg/kg/j d'allopurinol par voie orale est instauré, puis des différences notables concernant le remodelage du ventricule gauche ont pu être constatées :

- Une baisse de la dilatation du ventricule gauche remarquée par la mesure du diamètre du ventricule gauche à la fin de la diastole : LVEDD (left ventricule end-diastolic diameter)
- Une élévation de la fraction de raccourcissement $((LVEDD - LVESD)/LVEDD)$ et de la fraction d'éjection $((LVEDV - LVESV)/LVEDV)$
- Un déclin de l'hypertrophie de myocarde mesuré par l'aire des cardiomyocytes lors de la section transversale : CSA et par le rapport entre le poids du ventricule gauche et le poids du corps
- Une dégénérescence de la fibrose du myocarde (Bousselier, 2008)

Enfin il y a un rôle de l'allopurinol dans la fonction endothéliale.

Du point de vue vasculaire l'insuffisance cardiaque se modélise par une hausse de la résistance périphérique parallèlement une augmentation des concentrations plasmatiques de beaucoup de vasoconstricteurs mais également il y a un mauvais fonctionnement du rôle vasodilatateur de l'endothélium. La cause de ce dysfonctionnement est encore très mal connue. (Bousselier, 2008)

Selon l'expérience de Farquharson et al chez l'homme, ce médicament aide à corriger la fonction endothéliale chez l'insuffisant cardiaque. Effectivement, en présence d'allopurinol la réaction de l'endothélium à l'acétylcholine est plus considérable. Cependant l'allopurinol n'a pas d'effet sur la réponse au nitroprusside

de sodium et au vérapamil qui sont deux autres vasodilatateurs « endothélio-indépendant ».

De surcroît, selon l'expérience de George et al, l'action de l'allopurinol est dose-dépendante. Certes, plus la dose d'allopurinol est élevée, plus la vasodilatation en réponse à l'acétylcholine n'est considérable.

De plus, l'allopurinol a un rôle dans la consommation d'oxygène et l'efficacité mécanique du myocarde. Selon l'expérience de Ekelund et al, l'activité mécanique du myocarde est décrite par le rapport entre le travail d'éjection et la quantité d'oxygène utilisée par le myocarde. Donc, chez les canins en insuffisance cardiaque uniquement, l'allopurinol a un effet inotrope positif.

Dans les expériences de Cappola et al et de Ekelund et al, on a pu constater que l'allopurinol provoque une baisse d'utilisation d'oxygène, tout en élevant la contractilité du myocarde. A l'inverse des autres agents à effets inotropes positifs, cette molécule aiderait à une élévation de l'efficacité mécanique et énergétique du myocarde.

Enfin l'allopurinol aurait un rôle de correction et progrès de la réponse cardiaque à une stimulation bêta-adrénergique. En effet de manière courante, la stimulation beta-adrénergique endogène ou exogène élève la contractilité du myocarde. Cependant chez les insuffisants cardiaques cette stimulation est plus basse en raison d'une perte d'expression des récepteurs ou d'un mauvais couplage.

Selon l'expérience de Ukai et al, l'allopurinol aide à perfectionner la réponse à un stimulus bêta-adrénergique que la réponse soit exogène ou endogène pendant l'exercice et cela seulement chez les insuffisants cardiaques. (Bousselier, 2008)

3.7 Posologies

Il existe différents dosages pour l'allopurinol le 100 mg, 200 mg et 300 mg en boîte de 28 comprimés sécables ou capsulés.

Les posologies chez l'adulte sont : 100 à 300 mg par jour au cours du repas. Il est possible d'aller jusqu'à 900 mg par jour en 3 prises au repas. Le dosage de 900 mg par jour est utilisé en cas d'hyperuricémie secondaire à une hémopathie. Et le fractionnement des prises en 3 fois par jour est employé afin de limiter le risque de toxidermie grave. La dose doit tout d'abord être débutée à 100 mg par jour. Elle sera progressivement augmentée, environ tous les uns ou deux mois pour obtenir une uricémie inférieure à 420 μ mol/l soit 70mg/l.

La dose maximale est de 900 mg par jour.

La posologie chez l'enfant est : 10 à 20 mg par kg et par jour au cours du repas. Il est possible d'utiliser ce médicament uniquement chez l'enfant de plus de 6 ans. La dose maximum utilisée est de 400 mg par jour en trois prises. (Vital Durand et al, 2015)

3.8 Effets indésirables

Les effets indésirables sont de différents types. Ils se manifestent dans 1 % des cas (Lyevre, 1995) :

- En début de traitement, il existe un risque de crise de goutte, associé à une mobilisation des dépôts tissulaires d'acide urique. En prévention, on doit utiliser la colchicine ou des AINS (anti-inflammatoire non stéroïdien).
- Des troubles digestifs comme des gastralgies, des diarrhées que l'on peut éviter en prenant un repas, et enfin des nausées.
- D'autres effets divers comme des céphalées, des somnolences, des vertiges, une gynécomastie, une fièvre, une agranulocytose, une leucopénie, des alopecies réversibles. Il existe également des neuropathies sensitives distales, possible après 18 mois de traitement minimum, qui régressent à l'arrêt du traitement,

- Des réactions d'hypersensibilités sont rarissimes mais peuvent être graves : par exemple de la fièvre, un érythème pigmenté fixe. Certaines éruptions cutanées peuvent aller jusqu'au syndrome de Lyell ou de Stevens-Johnson ou de DRESS. Il y a également des risques de choc anaphylactique, d'arthralgie, d'adénopathie, d'insuffisance hépatique grave, d'hépatite granulomateuse. Le risque d'insuffisance rénale aigue peut nécessiter une épuration extrarénale. Il existe enfin un risque d'aplasie médullaire.
- De façon plus exceptionnelle, il y a risque de calculs urinaires contenant de l'oxypurinol, risques également d'effets prothrombotiques (infarctus du myocarde et AVC) suspectés avec le febuxostat. (Vital Durand et al, 2015)

Les DRESS vu précédemment dans un des effets indésirables, veut dire « drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms ». C'est un syndrome d'hypersensibilité dû aux médicaments. Il s'agit d'une toxicodermie très grave, qui peut dans certains cas s'aggraver d'un syndrome d'activation macrophagique. Il nous a été rapporté le cas d'un DRESS chez une femme, provoqué par l'allopurinol et lié à un syndrome d'activation macrophagique.

Une femme de 18 ans fut hospitalisée pour un exanthème généralisé aigu associé à des adénopathies cervicales. Cette manifestation cutanée était apparue trois semaines après le début d'un traitement par allopurinol. La biopsie cutanée était en faveur d'une toxidermie. Le traitement par allopurinol fût suspendu cependant l'hyper-éosinophilie fût observée deux semaines après l'arrêt. Puis, quatre jours après l'arrêt de l'allopurinol, le diagnostic de syndrome d'activation macrophagique était évoqué devant certains signes biologiques (bicytopénie, hyponatrémie, hypertriglycéridémie et élévation de la ferritinémie).

La femme a été traitée par une cure d'immunoglobulines, avec une évolution favorable.

Dans ce cas, le diagnostic de syndrome de DRESS est certain et est lié à un SAM secondaire. Le SAM est une maladie multi-systémique liée à une intense activation du système immunitaire.

Les principales causes de SAM secondaire sont de trois types :

- ❖ néoplasies telles que des lymphomes
- ❖ maladies infectieuses comme celles dues à des virus du groupe herpès ou des mycobactéries
- ❖ affections auto-immunes comme le lupus érythémateux systémique ou la maladie de Still.

Aucune d'entre elles n'a été démontrée chez notre patiente.

Le but de cette étude est de démontrer au clinicien la survenue possible d'un SAM au cours du DRESS. Cette complication grave et potentiellement fatale a des symptômes cliniques et biologiques identiques avec le DRESS, ce qui pourrait reculer le moment de son diagnostic (Korbi et al, 2015)



Photo 7: Éruption maculo-papuleuse érythémateuse diffuse du tronc. Source: Université numérique francophone des sciences de la santé et du sport 2011

3.9 Contre-indications

Les contre-indications de l'allopurinol sont valables chez le patient développant une hypersensibilité à la molécule. De plus, il est contre indiqué d'utiliser ce médicament au cours d'une grossesse (innocuité non démontrée), ni chez l'enfant dont l'âge est inférieur à 6 ans. (Vital Durand et al, 2015)

La contre-indication est absolue lors d'allergie à la molécule et en cas de grossesse car à la dose de 5 mg/kg/jour il y a un pouvoir pathogène chez l'animal. Enfin, la

contre-indication est aussi absolue lors de l'allaitement car l'allopurinol passe très facilement dans le lait.

La contre-indication est relative lorsqu'il y a association à la Vidarabine (cytostatique) et aux pénicillines du groupe A, car il y a un risque de majoration de réactions d'hypersensibilité). (Lyevre, 1995)

3.10 Précaution d'emploi

- Il faut impérativement respecter un délai minimum de 15 jours après la guérison d'une crise de goutte avant d'entreprendre une thérapeutique hypo-uricémiante. Il est aussi recommandé d'associer 1 mg par jour de colchicine jusqu'à la normalisation de l'uricémie et la disparition des tophus en cas de gouttes tophacées.
- Il faut informer les patients des risques de manifestations d'hypersensibilité. Il faut arrêter le traitement en cas d'éruption cutanée, de fièvre ou en cas d'autres types de manifestations.
- En cas d'insuffisance rénale, il faut baisser la posologie d'allopurinol :
 - Si la clairance de la créatinine est inférieure à 80 ml/min : 200mg par jour maximum, inférieure à 40 ml/ min : 100 mg par jour au maximum, Inférieure à 20 ml/min : 100 mg un jour sur deux au maximum.
 - Chez les patients dialysés, un traitement est inutile car il y a épuration de l'acide urique par la dialyse.
- Il ne faut pas associer l'allopurinol aux pénicillines A car cela peut engendrer des réactions cutanées fréquentes. (Vital Durand et al, 2015)

- Le taux d'acide urique dans le sang doit être surveillé à intervalle régulier.
- Pour les patients ayant le syndrome de Lesch-Nyhan ou un lymphome, une diurèse considérable sera assurée dans le but d'éviter l'apparition de lithiase xanthique.
- Chez les patients souffrant d'hémopathies malignes, il est préférable de corriger l'hyperuricémie existante avant l'instauration de la thérapeutique par les cytotoxiques. (Vidal, 2014)

3.11 Interactions médicamenteuses

Certaines associations entre l'allopurinol et d'autres médicaments sont déconseillées. Comme par exemple les aminopénicillines, les amidinopénicillines qui provoquent des éruptions cutanées. Il est déconseillé également d'associer l'allopurinol avec de l'azathioprine et du mercaptopurine par risque accru de pancytopenie. Associé à de la vidarabine, cela engendre des troubles neuropsychiques car l'allopurinol inhibe le métabolisme de l'antiviral. (Lyevre, 1995)

D'autres associations sont à utiliser avec précaution comme par exemple les AVK (anticoagulants vitamine K dépendants) (Vital Durand et al, 2015) surtout le dicoumarol car il y a un risque hémorragique. Il est donc impératif de surveiller le taux de prothrombine (Lyevre, 1995). Il y a également des risques de potentialisation lorsque l'allopurinol est associé aux sulfamides hypoglycémisants, à la théophylline et ses dérivés. (Vital Durand et al, 2015)

Il y a des risques d'insuffisances médullaires qui souvent régressent à l'arrêt du traitement lorsque l'allopurinol est associé aux cytostatiques anti-puriques (Purinéthol, Imuran). (Lyevre, 1995)

3.12 Modalités de conservation

La durée de conservation de l'allopurinol est de 4 ans. Il est recommandé de le conserver à une température inférieure à 25°C et également à l'abri de la lumière.

3.13 Conseils et Recommandations

Il faut prendre les comprimés d'allopurinol en fin de repas si la dose est supérieure à 300mg. (Lyevre, 1995)

4 L'allopurinol dans la leishmaniose canine

Nous avons vu précédemment l'importance géographique et symptomatique de la leishmaniose chez le chien. Nous avons aussi abordé les moyens de la soigner et la surveillance à effectuer pendant et après le traitement. D'autre part, nous avons étudié la molécule thérapeutique de l'allopurinol et plus particulièrement ces différentes indications chez l'humain ainsi que sa monographie.

Enfin, dans cette dernière partie nous allons découvrir le rôle important que peut avoir l'allopurinol dans la leishmaniose canine.

4.1 Mécanisme d'action dans la leishmaniose

L'action anti-leishmaniose est mise en évidence grâce au métabolisme et la biochimie des purines. En effet, comme le parasite n'a pas de xanthine oxydase, le mécanisme est assurément distinct de celui de l'effet régulateur de l'uricémie que l'on connaît.

Si les parasites ont la capacité de fabriquer leurs propres bases pyrimidiques, la fabrication endogène des bases puriques est *de novo*.

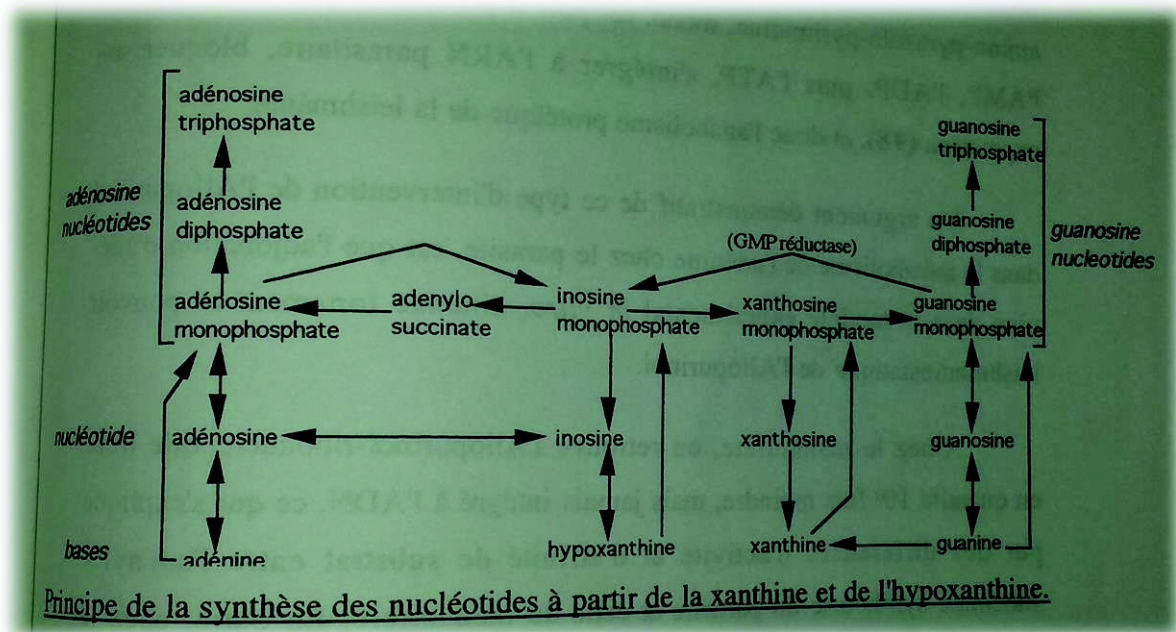


Schéma 10 Synthèse des nucléotides via la Xanthine et l'hypoxanthine

4.1.1 Explication de la fabrication des nucléotides via la xanthine oxydase et l'hypoxanthine

Cette synthèse n'existe pas. Elle emploie donc les bases azotées des tissus contaminés par le parasite pour fabriquer ses propres ribonucléotides. Ceci grâce à l'enzyme purine-nucléoside-ribosyl-transférase (hypoxanthine/guanine-phosphoribosyl-transférase).

Cette réaction donne l'inosine monophosphate qui à son tour, en agissant avec une adénylo-succinate-synthétase aboutit à l'adénosine monophosphate (voir schéma ci-dessous), puis au di-phosphate et enfin au tri-phosphate qui aura la capacité de s'incorporer à l'ARN parasitaire.

4.1.1.1 La voie principale

Chez les leishmanies, les structures enzymatiques, les ressemblances structurales de l'allopurinol et de l'hypoxanthine, son « analogue purique » permettent une substitution entre les molécules qui donnent la formation d'un analogue de l'inosine, puis de l'adénosine.

Cet allopurinol-ribonucléotide « inhabituel » est par la suite métabolisé par une voie qui n'existe pas chez le mammifère, en amino-pyrazolo-pyrimidine, mono-, di-, puis triphosphate. L'AMP, l'ADP et l'ATP vont se succéder puis le triphosphate va s'incorporer à l'ARN du parasite, bloquer son expression et par conséquent l'anabolisme protéique du parasite.

L'adjonction d'adénine baisse considérablement la capacité anti-leishmaniose de l'allopurinol. Ceci est un argument démonstratif du mécanisme de l'allopurinol dans le métabolisme de l'adénine chez le parasite.

On trouve l'allopurinol-ribonucléotide libre dans une proportion 10^8 fois moins, chez le mammifère, mais non intégré à l'ADN. Ceci montre, des différences d'activités et d'affinités de substrat entre l'adénylo-succinate-synthétase du parasite et de celle du mammifère. Par ailleurs, chez le mammifère, l'allopurinol est transformé en oxypurinol, qui est non actif sur quelques parasites, ceci indique la baisse d'activité enregistrée pendant la transposition dans beaucoup de modèles *in vivo*. (Lyevre, 1995)

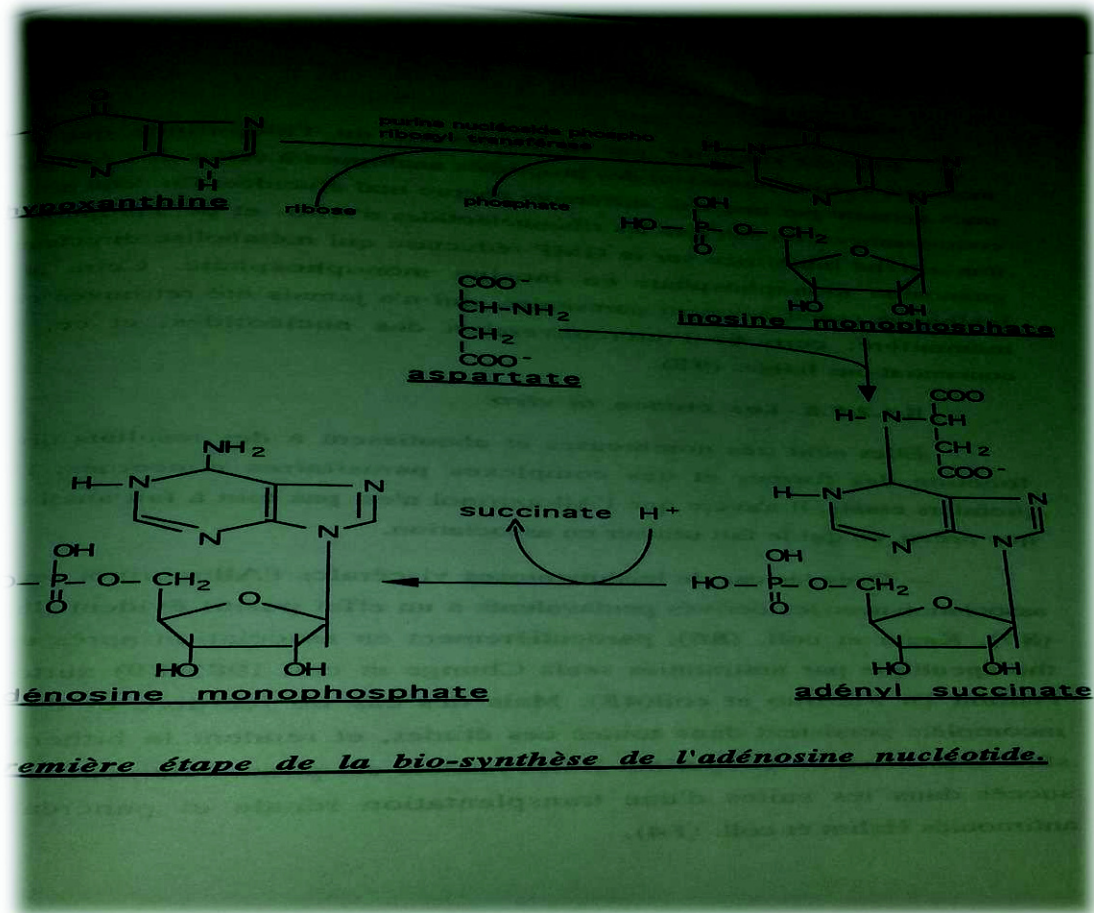


Schéma 11: Première étape de la synthèse de l'adénosine nucléotide

4.1.1.2 L'autre voie

Cette voie est proposée à cause de la trouvaille du thiopurinol, cette molécule proche, contenant des propriétés similaires à celle de l'allopurinol, mais utilisant une voie différente, encore peu clarifiée. Actuellement, nous avons connaissance que les ribonucléotides d'Allo- et de Thiopurinol possèdent une activité freinatrice sur la GMP-réductase qui transforme immédiatement la guanosine monophosphate en inosine monophosphate. Cette fonction inhibitrice typiquement parasitaire, qui n'a jamais été démontrée chez le mammifère, bouleverse l'interconversion des nucléotides, et ceci à des basses concentrations. (Lyevre, 1995)

4.1.2 Etudes *in vivo*

Il existe beaucoup d'études, qui nous donnent des résultats différents selon les formes et des structures parasitaires concernées. On a pu observer dès les premières études que l'allopurinol n'est pas complètement efficace que l'on avait pu l'imaginer, il est donc utilisé en association.

Dans les essais des leishmanioses viscérales où l'allopurinol est employé seul ou en association avec des médicaments dérivés pentavalents, l'efficacité est démontrée par les études faites par Jha en 1983 et Kager et coll en 1980. Cela plus précisément en association, à la suite d'un échec médicamenteux par les antimoniés seuls (Chunge et coll en 1985) ou particulièrement chez l'enfant (di martino et coll). Cependant des exemples de rechutes et de réponses non complètes subsistent dans toutes ces études. Cela argumente en faveur de l'utilisation d'une association médicamenteuse.

Dans les suites d'une transplantation rénale et pancréatite dues à un traitement par antimoniés, l'association allopurinol-ketoconazole est essayé momentanément avec succès car des rechutes peuvent apparaître. (Halim et coll). (Lyevre, 1995)

Finalement, on peut résumer en disant que l'allopurinol est un analogue structural de l'hypoxanthine. Il inhibe l'activité de la xanthine oxydase, l'enzyme catalysant la production de xanthine à partir de l'hypoxanthine ainsi que celle de l'acide urique à partir de la xanthine. Son activité anti-leishmanie est attribuable à l'incapacité du parasite à synthétiser des purines ex novo, ce dernier doit donc être approvisionné par l'hôte. Une fois incorporé par les amastigotes intracellulaires, l'allopurinol est transformé en composé toxique, le 4-amino-pyrazolepyrimidine, qui tue le parasite. (Briffod, 2011)

4.2 AMM

Ce médicament ne possède pas à ce jour d'autorisation de mise sur le marché pour traiter la leishmaniose canine.

4.3 Efficacité de l'allopurinol dans la leishmaniose canine

On sait que l'allopurinol est un analogue de la base purine. Cette purine est donc l'élément utilisé par le parasite et plus particulièrement incorporé dans son ARN qui induit alors un bouleversement de l'acide nucléique et l'arrêt de la synthèse nucléique. On a vu précédemment que la probabilité d'effets indésirables se produisait dans 1 % des cas. Cependant un emploi continu de ce médicament peu amener à la survenue de cristaux urinaires de Xanthine. (Louis, 2008)

Cette thérapeutique est beaucoup employée, seule ou en association dans le traitement de la leishmaniose canine. En effet, la rareté des effets secondaires, son efficacité dans le soulagement des signes cliniques, son faible coût et sa facilité d'administration (voie orale) en font un traitement de choix. La plupart du temps, il est recommandé de l'administrer quotidiennement pendant une durée indéterminée.

Une étude de Kuhlencord et al. (1992) qui employait l'allopurinol à la dose de 10 mg/kg *per os* sur 10 chiens nous a permis de voir une guérison des symptômes cliniques chez 9 animaux après 2 à 6 mois de traitement et également qu'il n'y avait pas de récurrence pendant les 20 mois suivant le traitement. Puis, quelques temps après les 20 mois d'observation, quelques chiens ont rechuté à l'arrêt de la thérapeutique. La plupart des chiens sont restés tout de même porteurs du parasite. (Catheland, 2005)

Par ailleurs, lorsqu'on administre au dosage de 5 mg/kg *per os* toutes les 8 heures, on a pu constater grâce à une étude sur 11 chiens qu'il y avait une guérison clinique en deux mois de traitement. On a pu également constater une baisse du taux d'anticorps anti-leishmanies chez 9 chiens néanmoins, la plupart demeurent séropositifs.

Une autre étude de SLAPPENDEL et TESKE (1999) employant l'allopurinol à la dose de 20 mg/kg/j rapporte 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, environ identiques 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. (Franc, 1995)

4.3.1 Comparaison de l'efficacité

4.3.1.1 Chez l'homme

Chez l'homme en cas de leishmaniose, l'allopurinol a peu d'efficacité lorsqu'il est utilisé en monothérapie, probablement du fait de sa transformation insuffisante en oxypurinol, composé chimique à l'origine du composé toxique le **4-amino-pyrazolepyrimidine**, qui est à l'origine de la mort du parasite. Et la combinaison de l'allopurinol avec l'antimoniote de méglumine chez l'homme permet de diminuer les doses de ce dernier. (Briffod, 2011)

4.3.1.2 Chez le chien

Lorsque l'allopurinol est administré seul sur une période de deux à trois mois, on observe une amélioration clinique modérée ainsi qu'une restauration partielle des anomalies biochimiques comme par exemple les protéines de la phase aiguë de l'inflammation. De la même manière que pour les composés précédents, l'allopurinol ne permet pas l'élimination complète du parasite et des rechutes peuvent se produire en cas d'interruption du traitement. C'est pourquoi l'allopurinol est généralement administré pendant plusieurs mois.

4.3.2 Posologie

En général, la posologie recommandée varie de 5 à 20 mg/kg, par voie orale toutes les douze heures pendant une période variant de deux mois à deux ans.

4.3.3 Effets indésirables

L'allopurinol présente peu d'effets indésirables, on peut constater que la tolérance à ce médicament est en effet excellente. Il semblerait même qu'il ralentit la détérioration de la fonction rénale chez les chiens présentant une protéinurie en l'absence d'insuffisance rénale. (Briffod, 2011)

4.4 Bénéfice de l'allopurinol en association

La leishmaniose canine est une parasitose en expansion permanente et pour laquelle beaucoup de protocoles thérapeutiques ont été adoptés. Cependant, l'utilisation du Glucantime en association avec l'allopurinol donne actuellement des résultats plutôt satisfaisants autant sur les signes cliniques que sur les risques de rechutes. (Bourdoiseau, 2008)

4.4.1 Analyse de l'association

Le tableau ci-dessous analyse et récapitule les résultats obtenus lors de la thérapie utilisant seulement du glucantime et de l'association glucantime-allopurinol.

Tableau 4: Résultats obtenus lors de la thérapeutique utilisant seulement du glucantime et de l'association Glucantime-Allopurinol

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 glucantime Zyloric-	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	

D'après le tableau, on peut constater que l'emploi du glucantime seul amène à la guérison de **53%** des chiens atteints de leishmaniose. De plus, il y a également séroconversion négative dans **32 %** des cas mais nécessite une multitude d'injections, au moins 100. Les échecs recouvrent **11** euthanasies dues le plus souvent à des rechutes avec aggravation; **2** améliorations partielles et **3** uvéites.

Des réactions locales oedémateuses ou indurées au niveau du lieu d'injection (18 cas) nécessitent de varier les sites d'injections. Une réaction systémique au bout des quatre à cinq premières injections est presque de règle et contraint à interrompre le traitement pendant cinq jours. Les effets secondaires rendent la reprise du traitement impossible dans certains cas (5 cas) (perte de l'appétit, fatigue, douleurs généralisées, locomotion difficile) sans atteinte de la fonction rénale.

L'antimoniote de N-méthylglucamine paraît faiblement 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. La plupart des accidents qui lui sont incriminés surviennent sur des canins pour lesquelles la fonction rénale n'a sûrement pas été correctement évaluée au début du traitement.

L'association de l'allopurinol et l'antimoniote de N-méthylglucamine élève la proportion de guérison des symptômes cliniques (81,5 %) tout en raccourcissant la durée du traitement injectable. Toutefois, le taux de négativation sérologique est médiocre (7,4 %).

Les cinq échecs (18,5 %) sont constitués par une euthanasie motivée par la récurrence d'une forme algique, deux morts dues à une insuffisance rénale, un cas d'absence totale d'amélioration et un cas de remontée non symptomatique des anticorps quatre mois après la négativation sérologique. Jusque-là, aucun chien ayant reçu pour thérapeutique l'allopurinol n'a déclaré d'effets secondaires ou de signes d'intolérance.

Concernant les insuffisances rénales, les formes aiguës sont inéluctablement mortelles peu importe les moyens mis en place alors que les formes subaiguës semblent bénéficier d'une corticothérapie associée à l'allopurinol. Utilisée de trop rare fois pour en tirer des conclusions (7 cas), la corticothérapie a cependant permis à deux chiens de survivre pendant au moins un an et à deux autres chiens de survivre pendant au moins deux ans, deux d'entre eux ont même «négativés» leur sérologie.

Un des éléments très importants du pronostic est l'atteinte rénale et elle semble constituer la principale cause d'échec. Dans cette série, l'âge, le sexe, la race et le titre en anticorps n'a pas d'influence sur les résultats thérapeutiques. (Louis, 2008)

Comme vu ci-dessus l'allopurinol peut être associé à un autre médicament pour traiter la leishmaniose chez le chien. Un médicament pouvant être utilisé pour l'association est donc le glucantime. Selon une autre étude réalisée sur un groupe de quarante-cinq canins réparti dans 2 sous-groupes dont 55,5% traités par glucantime seul et 44,5% traités avec l'association allopurinol-glucantime. Cette répartition a été obtenue par tirage au sort. On a pu donc constater dans le groupe allopurinol-glucantime que l'allopurinol est d'une innocuité satisfaisante et que ce dernier n'augmente pas et ne diminue pas l'apparition d'effets iatrogènes en association

avec les sels pentavalents d'antimoine. Cependant, il n'apporte malheureusement pas non plus un avantage médicamenteux significatif à l'association.

Pour les deux sous-groupes, les rechutes arrivent souvent dans les atteintes multifocales, et notamment dans le cas où les lésions muqueuses coexistent avec des lésions cutanées actives.

Les rechutes et les échecs médicamenteux de l'association auraient apparemment lieu la plupart du temps dans des cas où un traitement en monothérapie par stibié a déjà été instauré préalablement à l'association même s'ils sont bien suivis. Ceci montre un phénomène de résistance primaire et secondaire, qui atteint environ trente à trente-cinq pourcent des leishmanioses cutanéomuqueuses à *Leishmania Braziliensis Braziliensis*. (Lyevre, 1995)

4.4.2 Thérapeutique symptomatique

Avant toute mise en place de traitement spécifique un traitement symptomatique est à mettre en place afin de détecter et corriger une insuffisance rénale qui aurait été préalablement découverte. En effet, le traitement spécifique peut induire des effets indésirables sur le rein possiblement mortel. Si une insuffisance rénale s'avère confirmée chez le chien, il est impératif de la corriger grâce à des corticoïdes (prednisone de 1 à 2 mg/kg pendant une semaine) et à des perfusions. Ceci dans le but d'entraver la formation de complexes immuns donnant lieu à des glomérulonéphrites. Il est primordial que ce traitement donne de bons résultats cliniques et biologiques pour que la thérapeutique spécifique soit possible. Dans le cas inverse alors, les lésions rénales sont irréversibles et inconciliables avec la survie de l'animal. De la même façon, l'uvéite doit être prise en compte et subir un traitement avec une administration locale de corticoïdes (injection sous conjonctivale). (Bourdoiseau, 2008)

4.4.3 Thérapeutique spécifique adoptée

4.4.3.1 *Recommandation actuelle*

Ce traitement spécifique fait aujourd'hui l'objet d'un protocole pris en compte par le congrès de la société française de parasitologie à partir de plusieurs études cliniques qui ont été réalisées. En effet, c'est l'association allopurinol- antimoniate de méglumine qui est choisie. On peut commencer ce traitement dès le jour du diagnostic et même lorsqu'il y a une insuffisance rénale confirmée. Les doses recommandées doivent être scrupuleusement suivies que ce soit la voie d'administration ou la durée du traitement stipulée dans le protocole. En cas de non-respect des recommandations, il y a risque d'apparition de chimiorésistance avec une élévation de la toxicité et une diminution de l'efficacité. (Bourdoiseau, 2008)

4.4.3.2 *Posologie*

Le protocole classique consiste en l'administration sous-cutanée de 100mg/kg d'antimoniate de méglumine, une fois par jour pendant un à deux mois, puis on associe à l'administration par voie orale de 10mg/kg d'allopurinol toutes les 12 heures pendant plusieurs mois. (Briffod, 2011)

4.4.3.3 *Effets indésirables*

Les effets indésirables de ce protocole sont les mêmes que ceux décrits lors de l'administration seule d'un des deux composés.

4.5 Thérapeutiques moins utilisées

Le traitement prescrit ci-dessus est donc le protocole adopté chez le chien, il se substitue aux anciens protocoles qui utilisaient de l'antimoniate à des doses plus

hautes et donc plus toxique et par conséquent avec une efficacité moindre. Il existe aussi d'autres molécules qui ont été ou sont encore employées chez les canins mais qui présentent des dangers élevés et non négligeables. Les trois paragraphes qui suivent traitent de ces molécules. :

4.5.1 L'amphotéricines B (Fungizone)

Cette molécule présente une grande efficacité mais a pour effet secondaire une néphrotoxicité chez les canins. De plus l'administration est compliquée (voie intraveineuse stricte).

4.5.2 Le miltéfosine

Ce médicament est facile à administrer et performant, de plus il est faiblement toxique mais il est tératogène.

4.5.3 Le paramomycine

Cette thérapeutique est aussi efficace mais néphrotoxique chez le chien.

Toutes ces thérapeutiques sont à réserver à un usage hospitalier chez l'homme uniquement : « l'usage vétérinaire de l'amphotéricine B liposomale et des autres molécules antileishmanienne nouvelle (miltéfosine, paramomycine) doit être évitée afin d'entraver un phénomène de chimiorésistance. Par ailleurs, les autres molécules citées dans la littérature ne sont pas efficaces ou nécessitent des études complémentaires (quinolone, métronidazole, etc.). (Bourdoiseau, 2008)

Il est impératif de suivre l'animal régulièrement avec une surveillance clinique biologique et sérologique afin de déceler précocement toute rechute. (cf partie 1) (Bourdoiseau, 2008)

4.6 Classification cliniques des chiens et protocoles thérapeutiques

4.6.1 Classification clinique des canins

Il est assez difficile de regrouper les chiens dans des catégories spécifiques, car *Leishmania infantum* progresse en plusieurs semaines voire plusieurs mois et se manifeste par diverses formes cliniques.

Cependant, lorsque la leishmaniose est diagnostiquée, il est impératif que les vétérinaires attribuent un stade clinique à chaque chien dépisté leishmanien dans le but de mettre en place un traitement adéquat et d'envisager la progression possible de la maladie vers des stades plus sévères. C'est la raison pour laquelle, le CLWG ou Canine Leishmaniasis Working Group propose une classification des chiens répondant positivement aux tests sérologiques ou chez lesquels le parasite a été identifié par des méthodes directes. Bien sûr, cette classification ne doit pas être comprise comme un système rigide et exclusif compte tenu de la complexité de la maladie mais plutôt comme un outil utile pour la gestion des chiens infectés.

1) Stade A : Les chiens exposés.

Cette catégorie correspond à des chiens ayant des résultats négatifs à : la cytologie, l'histologie, la recherche de parasites ainsi qu'aux tests moléculaires ou/et qui possèdent aussi un faible titre en anticorps anti-leishmanies. Les chiens sont cliniquement sains ou peuvent présenter des signes associés à une autre affection. La plupart du temps, les chiens exposés à *Leishmania infantum* sont ceux qui vivent ou ont vécu pendant au moins une saison de transmission dans une région géographique dans laquelle la présence de vecteurs de leishmanies a été montrée.

2) Stade B : Les chiens infectés.

Il s'agit ici de chiens chez lesquels la présence du parasite a été démontrée à l'aide de méthodes directes c'est-à-dire un résultat positif à l'analyse microscopique, à la culture ou à la PCR. De plus, ces chiens ont également un faible titre en anticorps. Ce type de chiens peut être sains ou présenter des anomalies à l'examen clinique ou aux analyses de laboratoires, potentiellement associés à d'autres infections. En région endémique, un résultat positif de PCR réalisée sur des prélèvements cutanés ou de sang en l'absence de lésions et obtenu au cours la période de propagation de l'infection ne peut être considérée suffisante pour considérer un chien comme infecté.

3) Stade C : Les chiens malades (avec une leishmaniose clinique évidente).

Ce groupe de chien se caractérise par une cytologie positive indépendamment du résultat des tests sérologiques et par des chiens avec des titres élevés en anticorps. Un ou plusieurs symptômes cliniques fréquents lors de leishmaniose peuvent être présents. Sachant les multiples facettes de la maladie, seuls quelques-uns des signes cliniques listés précédemment peuvent être présents. Si il n'y a pas de signes détectables à l'examen clinique, ces chiens sont considérés, malades lorsqu'ils présentent des altérations de leurs paramètres hématologiques et/ou biochimiques et/ou urinaires, suggestives de leishmaniose.

4) Stade D : Les chiens sévèrement malades.

Les chiens qui présentent une condition clinique sévère sont inclus dans cette catégorie s'ils ont un ou plusieurs critères parmi les suivants :

- Présence d'une néphropathie avec protéinurie ou d'une insuffisance rénale chronique.

- Des problèmes coexistant tels qu'une atteinte oculaire, responsables d'une perte de fonction visuelle ou une atteinte sévère articulaire gênant la mobilité, liés ou non à la maladie et qui requièrent un traitement immunosuppresseur.
- Présence de conditions concomitantes telles que des infections diverses, néoplasies, affections endocriniennes ou métaboliques. (Paltrinieri et al, 2010)

4.6.2 Protocole de traitement recommandé

Tableau 5: Différents protocoles envisageables lors de leishmaniose canine (Issu de Solano- Gallego et al, 2009)

Protocoles	Médicaments et posologie	Effets indésirables principaux
1ère intention	antimoniote de N-méthylglucamine 75 à 100 mg/kg SID SC pendant 4 à 8 semaine et allopurinol 10 mg/kg BID PO pendant au moins 6 à 12 mois	Néphrotoxicité potentielle Abscesses et/ou cellulite cutanées
		Urolithiases de xanthine
2ème intention	miltéfosine 2mg/kg SID pendant 4 semaines PO et allopurinol 10mg/kg BID pendant au moins 6 à 12 mois	Vomissements Diarrhée
		Urolithiases de xanthine
3ème intention	amphotéricine B 0.5 à 0.8 mg/kg IV SID deux fois par semaine pendant 2 mois ou amphotéricine B sous forme liposomiale 3 mg/kg SID IV pendant 5 jours consécutifs ou métronidazole 25 mg/kg SID associé à spiramycine 150 000 U SID PO pendant 3 mois ou marbofloxacin 2 mg/kg SID PO pendant 1 mois	Néphrotoxicité
		Néphrotoxicité transitoire
		Non Décrit
		Non décrit

Le protocole qui est le plus utilisé et considéré comme le plus efficace chez le chien est la combinaison d'antimoniote de méglumine et d'allopurinol. Cette combinaison ainsi que la miltéfosine sont les seules drogues autorisées pour le traitement spécifique de la leishmaniose canine en Europe.

Ce traitement peut être administré aux chiens des catégories B, C et D décrits précédemment. La posologie recommandée est donc la suivante :

- antimoniote de méglumine : 100mg/kg, par voie sous-cutanée une fois par jour pendant quatre semaines, voire huit semaines. Cette dose peut être répartie en deux doses journalières de 50mg/kg.
- allopurinol : 10mg/kg par voie orale toutes les 12 heures pendant au moins six mois.

Concernant les canins des groupes B et C, cette thérapeutique devrait aboutir à une guérison des signes cliniques stables pendant au moins un an à condition qu'il y ait une administration régulière et correcte. De plus, il est impératif de constater une diminution de la charge parasitaire pendant au moins un mois.

Pour les chiens du groupe D, cette thérapeutique peut aider à l'amélioration de leur condition clinique. Comme vu précédemment il est primordial de mettre en place un traitement symptomatique, et plus particulièrement lors d'une insuffisance rénale. Le pronostic de la maladie dépend du statut clinique initial.

L'utilisation d'un protocole alternatif est possible en cas :

- d'absence de réponse au traitement recommandé,
- d'occurrence de rechutes peu de temps après la fin du traitement,
- du développement d'effets indésirables sévères,
- de la faible compliance du propriétaire, ou
- de l'indisponibilité des médicaments.

Le choix des médicaments doit être établi en fonction des essais cliniques publiés, des effets indésirables et de la « compliance » du propriétaire. Peu de protocoles remplissent ces conditions à savoir :

- l'allopurinol seul : 10mg/kg, par voie orale, toutes les 12 heures pendant au moins six mois
- la combinaison d'allopurinol à la même posologie que ci-dessus avec la miltéfosine à la dose de 2mg/kg par voie orale une fois par jour pendant vingt-huit jours. Les autres substances utilisables ont l'inconvénient d'entraîner de sévères effets indésirables. (Solano-gallego et al, 2009)

4.6.3 Guide de traitement en fonction du stade clinique

Les alternatives thérapeutiques sont relativement faibles et le choix d'un protocole doit être fait en fonction de la forme clinique de la maladie. C'est une des raisons du développement de la classification clinique précédemment décrite. A cette dernière, dans une optique thérapeutique, deux stades supplémentaires peuvent être rajoutés à savoir :

- Le stade Ea : il s'agit des chiens ne répondant pas au traitement recommandé.
- Le stade Eb : il s'agit des chiens présentant une rechute suite à l'arrêt du traitement recommandé. (Solano-gallego et al, 2009)

Le tableau 2 ci-dessous rappelle ces différents stades cliniques.

Tableau 6: Les différents stades cliniques utilisés pour le traitement des chiens atteints de leishmaniose. (Oliva et al, 2010):

Table 1—Staging of disease for treatment of dogs with leishmaniasis.

Stage of leishmaniasis	Features
A: Exposed	Includes dogs with negative cytologic, histologic, parasitological, and molecular findings and low-titer ³ antibodies against <i>Leishmania</i> spp. Dogs are clinically normal or have signs associated with other diseases. Usually, dogs in this category are those living or that have lived during 1 or more transmission seasons in a geographic region in which the presence of <i>Leishmania</i> vectors (sand flies) has been confirmed.
B: Infected	Includes dogs in which parasites have been detected through direct diagnostic methods (eg, microscopic evaluation, organism culture, or PCR assay) and with low-titer ³ antibodies against <i>Leishmania</i> spp. Dogs are clinically normal or have signs associated with other diseases. In endemic areas, detection of <i>Leishmania</i> DNA via PCR assay in skin or peripherally obtained blood samples collected during the infection transmission period, in the absence of evident lesions, may not be sufficient to consider a dog infected.
C: Sick (clinically evident disease)	Includes dogs with positive cytologic results regardless of serologic results, dogs with high antibody titers ³ against <i>Leishmania</i> spp, and rarely, infected dogs. One or more clinical signs common to leishmaniasis are present. ² Given the varied clinical manifestations of the disease, observed signs suggestive of disease can differ from the common clinical signs, as long as they can be clearly associated with ongoing infection. When physical examination does not reveal clinical signs, dogs in this category should still be defined as sick when hematologic, biochemical, and urinary alterations common to leishmaniasis ² are detected. Laboratory changes other than those considered common can also be indicative of disease, provided that they are associated with the infection.
D: Severely sick	Includes sick dogs with severe clinical illness, as indicated by 1 of the following: evidence of proteinuric nephropathy or chronic renal failure; presence of concurrent problems (eg, ocular disease causing functional loss or joint disease impairing mobility) related or unrelated to leishmaniasis that require immunosuppressive treatment; severe concomitant conditions including various coinfections or neoplastic, endocrine, or metabolic diseases; and clinical unresponsiveness to repeated courses of anti- <i>Leishmania</i> drugs.
E-a: Sick-unresponsive	Includes sick dogs unresponsive to recommended anti- <i>Leishmania</i> treatment.
E-b: Sick-early relapse	Includes sick dogs treated in accordance with the recommended anti- <i>Leishmania</i> protocol but that relapse soon after treatment ceases.

1) Stade A

A ce stade, il n'y a aucun besoin de traitement pour le chien. Néanmoins, une surveillance de la sérologie pendant les deux à quatre mois après la découverte initiale du faible titre en anticorps. A supposer qu'il y ait développement d'anomalies cliniques, des examens complémentaires devront être mis en œuvre dont un test direct de détection du parasite.

2) Stade B

Cette catégorie de chien n'a besoin d'un traitement seulement si la détection du parasite par des méthodes directes est associée à une élévation du titre en anticorps quelques semaines après le premier diagnostic sérologique. Si les chiens infectés ne

présentent pas de séroconversion, alors le traitement n'est pas indiqué, en revanche, ils doivent être suivis par des sérologies tous les deux à trois mois.

3) Stade C

Ce groupe de chien nécessitent la mise en place d'une thérapeutique appropriée. Un bilan paraclinique complet devrait être réalisé afin d'associer un traitement symptomatique au traitement spécifique.

4) Stade D

Ces chiens requièrent un traitement spécifique et symptomatique en fonction des altérations observées.

5) Stade Ea

Dans le but d'utiliser la meilleure stratégie, plusieurs facteurs doivent être pris en compte à savoir :

- S'assurer de l'observance du traitement.
- Réévaluer les doses administrées, leur fréquence et la durée du traitement.
- Les résultats de l'examen clinique et des examens de laboratoires doivent être révisés afin de savoir si les anomalies observées peuvent être consécutives à une autre maladie concomitante, partageant les mêmes signes que la leishmaniose.
- Si le diagnostic n'est basé que sur une sérologie, cette dernière devrait être répétée et une PCR devrait être proposée.

Si tous ces points n'éradiquent pas la maladie et que le traitement a été effectivement bien administré, alors un protocole alternatif doit être mis en oeuvre.

6) Stade Eb

L'existence d'une pathologie intercurrente doit être recherchée comme dans le cas précédent. Si la leishmaniose est confirmée et que le traitement a été correctement administré, ces chiens, comme ceux du stade Ea, doivent recevoir un traitement de seconde intention. (Olivia et al, 2010)

4.6.4 Bilan

Nous avons connaissance des résistances à la thérapeutiques anti-leishmanienne chez l'homme, toutefois les informations chez les chiens restent encore vagues et médiocres.

Une plus faible sensibilité de *Leishmania infantum* à la thérapeutique des composés antimoniaux chez des canins après plusieurs cures a été rapportée alors que d'autres études n'ont pas fait ressortir cette diminution (Solano-Gallego et al, 2009).

Actuellement il n'y a pas d'assurance sur la résistance de *Leishmania infantum*, ni sur les autres traitements employés chez le chien. On constate ici, que le traitement de la leishmaniose reste une problématique majeure à cause du potentiel zoonotique de cette parasitose, du faible taux de guérison parasitaire, de l'existence des résistances au traitement actuel et de l'impossibilité de prédire l'évolution de l'infection.

La décision d'un protocole thérapeutique nécessite de bien déterminer au préalable le statut clinique.

Il ne faut cependant pas oublier de mettre un accent particulier sur le traitement symptomatique.

4.7 Suivi et pronostic selon les stades cliniques

4.7.1 Chez les canins malades

La restauration clinique suite au traitement est très variable et dépend notamment du stade clinique et des résultats des analyses para-cliniques du chien. Entre autre nous savons que les chiens présentant une insuffisance rénale ont un taux de rémission clinique plus faible. La plupart des chiens montrent une amélioration clinique significative durant le premier mois de traitement. Cependant, pour certains une période plus longue est nécessaire avant de constater un début de réponse au traitement. Par ailleurs, le taux d'anticorps et les dégradations protéiques ont besoin de plus de temps pour revenir à la normale.

Quelques chiens montrent des effets secondaires à la thérapeutique, néanmoins ces effets doivent être distingués d'une éventuelle détérioration clinique liée à la progression de la maladie.

Selon les stades cliniques, les recommandations suivantes peuvent être suivies :

- ✓ les chiens des stades B et C, compte tenu des résultats de leurs examens cliniques et para-cliniques, n'ont pas besoin de traitement symptomatique. Toutefois, un examen clinique complet, un hémogramme, une biochimie et une analyse d'urine comprenant un rapport protéine-créatine urinaire ou RPCU chez les chiens connus pour être protéinuriques doivent être réalisés à la suite du traitement avec l'antimoniote de méglumine ou après un mois de traitement avec l'allopurinol. Si les résultats ne montrent pas d'anomalies, les chiens peuvent continuer à recevoir l'allopurinol pour cinq mois de plus. Il est important que les chiens de ces catégories soient réévalués tous les trois à quatre mois pendant la thérapeutique puis tous les six mois après la fin du traitement, à l'aide de tests sérologiques. Le moment approprié pour stopper le traitement à l'allopurinol est mal défini et se base généralement sur les résultats para-cliniques, sérologiques et

parasitaires. Néanmoins, quelques auteurs ont défini les critères suivants à savoir : un examen clinique et des analyses de laboratoires normales, au moins un an après la mise en place du traitement à base d'allopurinol et une baisse marquée du taux d'anticorps. Le traitement à l'allopurinol doit être poursuivi à vie chez certains chiens (Paradies et al, 2010).

- ✓ Au cours d'une rechute clinique, un traitement devrait être ré-initié aussitôt avec la même thérapeutique. Si ce traitement n'est pas suivi d'une amélioration des symptômes cliniques ou si une rechute a de nouveau lieu peu de temps après l'arrêt du traitement, ces types de canins devraient être considérés comme appartenant à la catégorie Ea ou Eb.
- ✓ Concernant les chiens du stade D : l'importance du suivi est fonction du statut clinique des chiens. De façon générale, un suivi clinique et para-clinique est nécessaire pendant le traitement, particulièrement lors d'altérations de la fonction rénale. Une fois le traitement achevé, un suivi devrait être effectué tous les un à deux mois, en insistant sur le contrôle des organes affectés.
- ✓ L'utilisation du taux d'anticorps pour évaluer l'amélioration clinique est controversée. Il a été montré qu'une baisse lente et progressive du taux d'immunoglobulines G et A était associée à une amélioration clinique alors que d'autres études ont montré le contraire (Solano-Gallego, 2009). Il est cependant recommandé de réaliser un test sérologique quantitatif dans le même laboratoire six mois après la mise en place du traitement compte tenu de la longue demie-vie des immunoglobulines G et de la présence fréquente d'anticorps en grande quantité chez les chiens malades. D'autre part, une élévation du taux anticorps peut être interprétée comme un marqueur de rechute, notamment chez les chiens dont le traitement est terminé.
- ✓ Pour des raisons épidémiologiques, les chiens infectés par ce parasite et vivant en zones non endémiques où il existe des vecteurs compétents doivent être impérativement mis sous traitement dès le

début de la période d'activité des phlébotomes. Cependant, le traitement est également conseillé même en l'absence de vecteur, en raison des autres modes de transmission possible.

Le pronostic concernant la leishmaniose canine reste compliqué à établir, les études consacrées à cette question sont limitées. Il est évident que le pronostic varie en fonction du statut clinique et para-clinique initial de l'animal. Les systèmes de classification clinique définis dans les parties précédentes ont pour but de définir des catégories de chien afin de mettre en place une thérapeutique adaptée.

4.7.2 Chez les canins sains

Une question reste très discutée concernant les porteurs sains, à savoir : Les chiens cliniquement sains doivent-ils être suivis régulièrement par sérologie ?

Il est recommandé de titrer les anticorps lors de plusieurs situations :

- lorsque les chiens sont importés,
- amenés à voyager en régions non endémiques,
- amenés à être des donneurs de sang,
- utilisés pour des études épidémiologiques ou pour la recherche
- ou si leurs propriétaires souhaitent les faire suivre dans le but de détecter précocement l'infection, ce qui serait bénéfique pour le chien et permettrait un contrôle de l'évolution de la maladie clinique.

Il peut être conseillé de suivre les chiens vivant en zone endémique au moins une à deux fois par an pour la mise en place de mesures thérapeutiques et préventives efficaces.

Concernant le suivi par PCR de manière générale, il est recommandé d'évaluer les canins sains par PCR uniquement s'ils doivent être exportés en zone non endémique, s'ils doivent devenir des donneurs de sang, s'ils sont destinés à être des animaux de compagnie de personnes immunodéprimées ou encore intégrés dans

des études épidémiologiques ou des projets de recherche. Il est préférable d'éviter de tester par PCR les chiens sains en dehors de ces situations.

Les canins porteurs sains mais séropositifs doivent être pris en charge en fonction de leur titre en anticorps. Ceux présentant un titre important devraient être traités de façon identique aux chiens malades aussi bien en termes de traitement, de dosage que de surveillance. Ceux présentant un titre faible en anticorps devraient être sous surveillance régulière et subir un examen clinique, des examens complémentaires de routine et des tests sérologiques sur une base régulière de trois à six mois pour évaluer la progression éventuelle de la maladie.

Si on constate une élévation significative du taux en anticorps, sans tenir compte des signes cliniques ou des anomalies para-cliniques, ces chiens doivent subir un traitement comme des chiens malades.

En outre, il a été montré que les porteurs sains sont une source d'infection pour les phlébotomes, c'est la raison pour laquelle ils devraient aussi être protégés avec des insecticides topiques répulsifs pour minimiser la transmission de l'infection pendant la période d'activité du vecteur.

Les chiens porteurs sains, séronégatifs mais PCR positifs devraient avoir une surveillance clinique et par sérologie, tous les six mois à un an afin de surveiller une éventuelle séroconversion. En revanche le traitement de ces chiens n'est pas conseillé mais ils doivent faire l'objet d'une protection insecticide pour éviter toute transmission. (Vu précédemment)

4.7.3 Autres cas de figures

Une question reste encore non élucidée et concerne la possibilité pour certains chiens infectés mais cliniquement sains de pouvoir se débarrasser du parasite de manière spontanée. Il s'agirait d'un évènement exceptionnel. Il semblerait plutôt que ces canins porteurs sains hébergeraient le parasite en très petit nombre dans le sang, le foie, la rate, les nœuds lymphatiques ou la peau. Une étude a démontré que ces animaux sont positifs à la PCR réalisée sur des prélèvements de moelle osseuse, et deviendraient négatifs avec le temps. Néanmoins, cette étude présente

une limite qui est d'avoir employée une PCR conventionnelle et l'échantillonnage d'un seul type tissulaire (Solano- Gallego et al, 2009).

Des études futures sont donc nécessaires pour élucider cette question.

Une autre question également en suspens est la possibilité de réinfection de chiens infectés. Certes, il est compréhensible de penser qu'une exposition passée pourrait procurer un certain degré de résistance chez les chiens. De plus, aucune donnée n'existe relative à des réinfections en condition naturelle mais certains auteurs affirment qu'une réinfection chez des canins vivant en zone endémique reste envisageable et qu'elle est très vraisemblable. Les chiens peuvent être infectés par une souche dans un premier temps et pourraient être contaminés par une souche différente plus virulente plus tard.

4.8 Conseil alimentaire associé au traitement par l'allopurinol dans la leishmaniose canine

4.8.1 Etude clinique

Une étude fut réalisée en 2013 par M,Mireaux, C,Villaverde, M, Hervera, X, Roura, E, Caussé, A, Feugier, V, Biourge et I, Mougeot. Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'influence d'un régime pauvre en purine et à doses modérées en protéine sur l'évacuation urinaire de xanthine et des métabolites des purines chez les chiens atteints de leishmaniose et qui avaient comme thérapeutique l'allopurinol. En effet, en général l'utilisation d'allopurinol pour traiter les chiens atteints de leishmaniose élève considérablement le risque d'urolithiases à cristaux de xanthine. Notamment en diminuant l'altération de l'hypoxanthine en xanthine puis en acide urique et allantoïne.

4.8.1.1 Méthode utilisée

L'étude réalisée concerne des chiens atteints de leishmaniose mais sans problème hépatique ni rénal, et qui sont traités par allopurinol. Ces canins ont été alimentés durant un mois avec des aliments ayant une quantité faible en purine (59 mg EqUA/100 g) et modérés en protéines (18%). Pendant cette période on a prélevé les urines de 12h, précédé et suivi par un sondage vésical en début et fin d'étude. On a mesuré au cours de cette période le pH, la créatinine ainsi que les concentrations urinaires en hypoxanthine, xanthine, acide urique et allantoïne. Des échographies vésicales ont aussi aidé à objectiver la présence de calculs dans les vessies en début et fin d'essai.

4.8.1.2 Résultats obtenus

Treize chiens ont été inclus dans l'étude dont six males et sept femelles cependant un chien a dû être exclu de l'analyse.

Les calculs visibles à l'échographie ont subi une réduction non négligeable chez bon nombre de chiens. Il y en avait six en début d'études et deux en fin d'étude $p=0.046$. De plus, les excrétions urinaires ($\mu\text{mol}/12\text{h}$) de xanthine $p=0.041$ et d'acide urique $p=0.026$ ont baissé significativement. Les excrétions d'hypoxanthines $p=0.075$ et d'allantoïnes $p=0.062$ tendent également à diminuer.

4.8.1.3 Conclusion de l'étude

On peut donc en conclure qu'un régime faible en purine et en protéine est indispensable et bénéfique pour une alimentation sur du long terme chez des canins atteints de leishmaniose et utilisant comme thérapeutique l'allopurinol. Certes, ce régime réduit le risque d'urolithiases à cristaux de xanthine. (Mireaux et al, 2014)

4.8.2 Aliments diététiques sur le marché

Il existe des aliments diététiques mis sur le marché et qui permettent un régime adapté pour les chiens atteints d'une leishmaniose.

4.8.2.1 Advance veterinary diets

C'est un aliment sec diététique complet pour les chiens leishmaniens. Il est fabriqué par le laboratoire Affinity petcare qui est une entreprise experte en nutrition animal.

4.8.2.1.1 La composition

Les ingrédients utilisés sont : des brisures de riz, de la farine de blé, des oeufs en poudre, du maïs, de la graisse animale stabilisée avec de la vitamine E, de la farine de soja, des protéines de soja hydrolysées, du blé, de la farine de gluten de maïs, de l'hydrolyse de protéine animale, de la pulpe de betterave, du petit-lait, de l'huile de noix de coco, du carbonate de calcium, des protéines plasmatiques, de l'huile de poisson, de la caseinate, de la farine de maïs, du phosphate monocalcique, du sel, du chlorure de potassium, du DL-méthionine, de la choline, de la taurine, des extraits d'agrumes riches en bioflavonoïdes, du fumarate ferreux, et de la biotine.

Les sources de protéines à haute valeur biologique sont les oeufs, le petit-lait, la caséinate et les protéines hydrolysées de soja.

Si on fait **une analyse moyenne** on peut retrouver les résultats du tableau ci-dessous :

Tableau 7: Analyse de la composition des aliments Advance veterinary diets

	Pour 100 g d'aliment	pour 100 g de MS	Pour 100 Kcal d'Energie métabolisable
Humidité	8		
energie metabolisable (Kcal)	374,2	406,7	
Proteines (g)	24,3	26,4	6,5
Matieres grasses (g)	16,1	17,5	4,3
Glucides (ENA) (g)	32,7	35,5	8,7
Cellulose brute (g)	2	2,2	0,5
Cendres brutes (g)	6	6,5	1,6
Calcium (g)	0,8	0,86	0,2
Phosphore (g)	0,06	0,65	0,16
Ca/P	1,33	1,33	1,33
Sodium (g)	0,22	0,24	0,06
Potassium (g)	0,83	0,9	0,2
Vit A (UI)	2300	2500	615
vit D3 (UI)	150	163	40
Vit E (mg)	90	97,8	24
Zinc (mg)	2,2	2,4	0,6
Selenium (mg)	0,025	0,03	0,01
Taurine (mg)	120	130,4	32
Oméga 3	0,34	0,37	0,01
Ratio Oméga 6/3	6,59	6,59	6,59

4.8.2.1.2 La digestibilité

Si l'on considère la digestibilité totale elle est de 86.8%

La digestibilité des protéines est de 87.1%, celle des matières grasses est de 94.0%, celle des glucides est de 92.2%, enfin celle des calories est de 89.3%.

4.8.2.1.3 Caractéristiques

Ces aliments sont riches en anti oxydants : Vitamine E, Vitamine C, bioflavonoides, taurine et sélénium.

Comme vu dans l'étude précédente, il est important d'avoir des aliments faibles en purine, donc des aliments pauvre en acide nucléiques afin de prévenir la formation de calculs de xanthine dérivés de l'utilisation de l'allopurinol.

La formule de cet aliment est dermoprotectrice grâce à l'acide linoléique, la biotine et les acides gras oméga 3.

De plus, cette nourriture a une excellente appétence et une haute digestibilité.

Enfin la taille des croquettes a été élaborée pour des canins médiums ou maxi, pour lesquelles les risques d'exposition au vecteur est le plus élevé.

Il existe deux types de sac, l'un a 3 Kg et l'autre à 10 Kg. (Petit, 2007)

4.8.2.1.4 Utilisation

Chez le chien, cet aliment est à utiliser :

- En support nutritionnel à la thérapeutique des chiens atteints de la leishmaniose
- Afin d'élever l'immunité cellulaire
- Pour prévenir l'apparition des calculs de xanthine
- Pour l'amélioration des processus inflammatoires et des lésions de la peau.

4.8.2.1.5 Mode d'emploi

La quantité moyenne journalière dépend du poids :

Tableau 8: La quantité moyenne d'aliments journalière dépend du poids

Poids (kg)	Poids correct (maintenance) (g/jour)	Poids inférieur à la normale (poids bas)(g/jour)
5 Kg	75 g	90 g
10 Kg	125 g	150 g
15 Kg	160 g	190 g
20 Kg	200 g	240 g
25 Kg	230 g	275 g
30 Kg	265 g	320 g
35 Kg	295 g	355 g
40 Kg	320 g	385 g
45 Kg	350 g	420 g
50 Kg	375 g	450 g

5 Conclusion

A travers ce travail, nous avons pu découvrir dans une première partie, que la leishmaniose canine est une parasitose en pleine expansion. En effet, nous avons pu voir que les modalités de transmission sont en constante évolution, en relation avec les changements environnementaux, climatiques, économiques et démographiques, qui agissent sur la répartition des agents pathogènes et de leurs vecteurs.

Cette parasitose peut se manifester sous différentes formes symptomatiques que ce soient au niveau de l'état général, des signes cutanés, des signes oculaires, des signes rénaux et bien d'autres, ce qui rend le diagnostic de la maladie plutôt difficile.

En ce qui concerne la technique de diagnostic utilisée préférentiellement, c'est la détection rapide (sérologie) au cabinet. Concernant les mesures prophylactiques recommandées, c'est le collier à base de deltaméthrine associé dans la plupart des cas à l'utilisation de spot-on de perméthrine.

D'autre part nous avons pu voir les différentes thérapeutiques qu'il existe pour éradiquer ce parasite. Ainsi que certains de leurs effets indésirables.

Dans une deuxième partie, nous avons pu explorer différents aspects de la molécule d'allopurinol qui est un traitement utilisé principalement en médecine humaine pour la goutte ou les lithiases uriques.

Ce travail nous a également permis de voir les différents effets indésirables, qui se manifestent dans 1 % des cas. Nous avons pu voir les différentes posologies de cette thérapeutique, certaines contre-indications ainsi que les recommandations et précautions d'emplois nécessaires à la réussite du traitement.

Enfin, dans la dernière partie nous avons pu voir le rôle très intéressant de l'allopurinol pour aider à guérir la leishmaniose canine et l'expansion de son utilisation pour éradiquer ce parasite. En effet, l'activité anti-leishmanie de l'allopurinol est attribuable à l'incapacité du parasite à synthétiser des purines *ex novo*. Ce dernier doit donc être approvisionné par l'hôte. Une fois incorporé par les

amastigotes intracellulaires, l'allopurinol est transformé en composé toxique, le 4-amino-pyrazolepyrimidine qui tue le parasite. De plus, nous avons énuméré certaines règles hygiéno-diététiques à respecter pour favoriser la réussite du traitement.

Pour terminer, nous pouvons insister sur le rôle très important du pharmacien d'officine qui doit donner les informations nécessaires aux propriétaires de chien. Importance tant sur les symptômes cliniques de la maladie qui sont divers et variés et qui rendent donc complexes le diagnostic, que sur les traitements et les différents moyens de préventions. De plus, le pharmacien peut diriger les propriétaires d'animaux vers les cabinets vétérinaires ou les laboratoires afin de réaliser le diagnostic et donner des conseils hygiéno-diététiques pour parfaire le traitement médicamenteux mis en place.

6 Table des illustrations

6.1 Liste des images

Images 1: Stades amastigotes de leishmanies dans un macrophage, colorés au Giemsa source: école vétérinaire de Lyon.....	22
Image 2: Formes promastigotes de leishmanies (source : UMR, 2013 [en ligne])....	23
Images 3: phlébotome adulte	26
Images 4: évolution du phlébotome à différents stades.....	26
images 5: Molécule d'allopurinol.....	78
Images 6 : comparaison entre une articulation saine et une arthrite goutteuse	100
Docteurcllic. Goutte. [En ligne]. (Modifié le 18/11/2015) Disponible sur le web : < http://www.docteurcllic.com/a-propos/conditions-utilisation-site.aspx > (Consulté le 08/02/2016)	

6.2 Liste des photos

Photo 1: chien atteint de leishmaniose canine (source: gslc: gruppo di studio sulla leishmaniosi canina)	31
Photo 2: Epistaxis	43
Source : Leishmaniose canine et féline,G Bourdoiseau et M Franc, elsevier masson en 2008	
Photo 3: Photographie d'une chien en fin d'évolution de leishmaniose: cachexie sévère (G.S.L.C : Gruppo di Studio Sulla Leishmaniosi Canina).....	45
photo 4: onychogribose	45

. Source : Leishmaniose canine et féline, G Bourdoiseau et M Franc, Elsevier Masson en 2008

photo 5: atteinte oculaire chez un chien leishmanien 46

Source : Leishmaniose canine et féline, G Bourdoiseau et M Franc, Elsevier Masson en 2008

Photo 6: boîtes de Zyloric et Allopurinol délivrées en pharmacie..... 76

Source : hacpharma.com et site : alain delpey photo

Photo 7: Éruption maculo-papuleuse érythémateuse diffuse du tronc. Source: Université numérique francophone des sciences de la santé et du sport 2011 107

6.3 Liste des schémas

Schéma 1: Cycle biologique de la leishmaniose..... 40

Nouvel Espéranto des Lévrieriers. La leishmaniose [en ligne]. (2014) Disponible sur : <http://www.google.fr/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fwww.esperanto-des-levriers.fr> (Consulté le 01/04/2014)

Schéma 2: Conduite diagnostique à tenir face à un chien présentant des signes cliniques et/ou des anomalies para-cliniques compatibles avec la leishmaniose canine..... 58

Schéma 3 : Schéma réactionnel du premier type de synthèse de l'Allopurinol étape 1 et 2 80

Thèse Azzoulai Patrick en 1985

Schéma 4: Schéma réactionnel du premier type de synthèse de l'Allopurinol étape 3 et 4 81

Thèse Azzoulai Patrick en 1985

Schéma 5: Schéma réactionnel de la deuxième synthèse possible de l'Allopurinol . 83

Thèse Azzoulai Patrick en 1985

Schéma 6: Schéma réactionnel de la troisième synthèse possible de l'Allopurinol ..	84
Thèse Azzoulai Patrick en 1985	
Schéma 7: Spectre Ultra-Violet de l'Allopurinol	87
Thèse Azzoulai Patrick en 1985	
Schéma 8 : mécanisme chimique de l'inhibition de la xanthine-oxydase à visée hypo-uricémiant par l'allopurinol chez l'homme	90
Thèse Lyevre Philippe en 1995	
Schéma 9 : Schéma récapitulatif du métabolisme de l'Allopurinol.....	97
Thèse Azzoulai Patrick en 1985	
Schéma 10 Synthèse des nucléotides via la Xanthine et l'hypoxanthine.....	111
Thèse Lyevre Philippe en 1995	
Schéma 11: Première étape de la synthèse de l'adénosine nucléotide.....	113
Thèse Lyevre Philippe en 1995	

6.4 Liste des cartes

Carte 1 : Répartition des différents genres de phlébotomes dans le monde (source : Université de Reims)	24
Carte 2: Cartographie du risque de leishmaniose canine dans le sud de la France. En vert : foyer associé à <i>P.perniciosus</i> (Chamaillé et al, 2010)	37
Carte 3 : Evolution du nombre de cas de leishmaniose en France de 1998 à 2011 (La leishmaniose gagne du terrain en France, Bourdeau P, semaine vétérinaire- A la une N°1455 DU 17/06/2011)	38

6.5 Liste des tableaux

Tableau 1: Caractères généraux des foyers de leishmaniose viscérale dans les différentes régions biogéographiques (d'après J .P Dedet, 1976, Bull. Inst. Pasteur, 74, 421)	25
Tableau 2: Surveillance des leishmanioses humaines : déclarations de 1999-2010. Source : Centre National de Références des Leishmania (page consultée le 27 août 2013)	36
Tableau 3: la solubilité de l'allopurinol à 25°C	85
Thèse Azzoulai Patrick en 1985	
Tableau 4: Résultats obtenus lors de la thérapeutique utilisant seulement du glucantime et de l'association Glucantime-Allopurinol	118
Tableau 5: Différents protocoles envisageables lors de leishmaniose canine (Issu de Solano- Gallego et al, 2009)	125
Tableau 6: Les différents stades cliniques utilisés pour le traitement des chiens atteints de leishmaniose. (Oliva et al, 2010):	128
Tableau 7: Analyse de la composition des aliments Advance veterinary diets	138
Tableau 8: La quantité moyenne d'aliments journalière dépend du poids	140

7 Références bibliographiques :

ANOFEL : Association française des enseignants et praticiens hospitaliers de parasitologie et mycologie médicales. *Parasitoses et Mycoses Des Régions Tempérées et Tropicales*. 3ème édition. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson, 2013, 472 p.

AZZOULAI P. "Allopurinol." Thèse de doctorat : en pharmacie. Paris : Université Paris 5 René Descartes, 1985, 70p

BANETH G. "Les limites thérapeutiques." *School of Veterinary Medicine*, n.d. Edition spéciale, 2011, p 103-109.

BORJA-CABRERA GP, CORREIA PONTES NN, DA SILVA VO, PARAGUAI DE SOUZA E, SANTOS WR, GOMES EM, LUZ K.G, PALATNIK M, PALATNIK DE SOUSA C.B (2002). Long lasting protection against canine kala-azar using the FML-QuilA saponin vaccine in an endemic area of Brazil (São Gonç,alo do Amarante). *Vaccine*, **20** , 3277-3284.

BOURDEAU P. « La Leishmaniose Gagne Du Terrain En France ». *Semaine Vétérinaire- A la Une.* no. 1455 (2011): 26–30

BOURDOISEAU G. "La Leishmaniose Canine et Féline." *EMC Vétérinaire*, no. 1350 (2008): 1–9.

BOURDOISEAU G. "La Leishmaniose Canine à *Leishmania Infantum*," 1983. "Traitement de La Leishmaniose Canine : Actualités." *Revue Médicale Vétérinaire*, Revue médicale vétérinaire, 151, no. 5 (2000): 395–400.

BOURDOISEAU G. Traitement de la leishmaniose canine : actualités. *Revue médicale vétérinaire*, 2000, 151, 5, p 395-400.

BOUSSELLIER R. "Intérêt de L'utilisation de L'allopurinol Dans L'insuffisance Cardiaque Chez Le Chien : étude bibliographique". Thèse de doctorat : vétérinaire. Toulouse :. Université Paul-Sabatier, 2008, 51p

BRIFFOD C. "Revue actuelle en matière de leishmaniose canine." Thèse docteur vétérinaire, Université Paul-Sabatier, 2011, 101 p

- CATHELAND S. "Leishmaniose : Une Zoonose en Pleine Extension," *la dépêche vétérinaire*, no. 865 (2005).
- CERQUEIRA E J L, SHERLOCK I, BARBOSA JUNIOR A , NAKATANI M. "Experimental Infection of Equus Asinus with Leishmania Chagasi." *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, no. 36 (2003): 695–701.
- CHAMAILLE L, TRAN A, MEUNIER A, BOURDOISEAU G, READY P, DEDET J-P. "Environnemental Risk Mapping of Canine Leishmaniasis in France. Parasites and Vectors," 3 (31) 2010, 1–8.
- COLLECTIF. *Vidal 2014: Le Dictionnaire*. 90ème ed. Vidal, 2014.
- DA SILVA S M, RABELLO P, GONTIJO N, RIBEIRO Raul Rio, MELO , RIBEIRO V M , MICHALICS M S M. "First Report of Lutzomyia Longipalpis by Leishmania (Leishmania) Infantum from a Naturally Infected Cat of Brasil." *Veterinary Parasitology*, no. 174 (2010): 150–154.
- DEDET J-P. *Les Leishmanioses*. Ellipses. Paris, 1998. "Les Leishmanioses En France Métropolitaine." *Bulletin Épidémiologique*, no. 38 (2010): 9–13p
- DEDET J-P (1998). *Les leishmanioses*. Ellipses. 256 p
- DURPOIX D. "Etudes épidémiologique de la leishmaniose canine dans Le Sud de La France : Techniques de Diagnostic, Prophylaxie et Définitions de La Zone D'enzootie. Influence Des Facteurs Environnementaux." Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon 1 : Université de Claude-Bernard, 2008, 108 p
- EUZEBY J. *Grand Dictionnaire Illustré de Parasitologie et Vétérinaire*. Paris: Lavoisier, 2008, 818p
- FAUCHIER N. *Med'Vet*. Editions Med'com. Paris, 2016, 2304p
- FAVENNEC L. "Parasitologie," 2013.
- FRANC M. Leishmaniose Canine. *Encyclopédie Vétérinaire*, Paris : 1995.
- GAGE K, R BURKOT t, J Eisen Rebecca , B HAYES Edward. "Climate and Vector Borne Diseases." *American Journal of Preventive Medicine*, no. 35 (2008): 436–50.
- GARNIER M, DELAMARE V, DELAMARE J, et al. *Dictionnaire Illustré Des Termes de Médecines*. 31 ème édition. Paris: Maloine, 2012, 1054 p

- GRAMICCIA M. “Recent Advances in Leishmaniosis in Pet Animals: Epidemiology, Diagnostics and Anti-Vectorial Prophylaxis.” *Veterinary Parasitology*, no. 181 (2011): 23–30.
- GRANIER, M. “Etude La Perception Du Vaccin Contre La Leishmaniose Par Les Vétérinaires et Les Propriétaires de Chien En Zone D’enzootie Sur Le Territoire de France Métropolitaine.” Université Paul Sabatier, 2013, 166 p
- HOUIN R. “Changements Climatiques et Agents de Parasitoses.” *Annale de L’institut Pasteur Actualité*, no. 16 (2003): 25–27.
- KORBI M, YOUSSEF M, BEN BRAHIM I, et al. “Allopurinol-induced DRESS complicated by hemophagocytic lymphohistiocytosis.” Elsevier masson, 2015.
- LOUIS, C. “La Leishmaniose Canine : Ce Que Doit Savoir Le Pharmacien D’officine.” Université d’Henri Poincaré-Nancy 1 Faculté de pharmacie, 2009, 108 p
- LYEVRE, P. “Le Traitement de La Leishmaniose Cutanéomuqueuse Latino-Américaine Par L’association allopurinol-gluconate.” Thèse de doctorat en médecine : Faculté de médecine et de pharmacie de Besançon, 1995, 212p
- MARCONDES M, BIONDO A W, GOMES A A D, SILVA A R S, VIEIRA R F C, CAMACHO A A, QUINN J, CHANDRASHEKAR R. “Validation of a *Leishmania Infantum* ELISA Rapid Test for Serological Diagnosis of *Leishmania Chagasi* in Dogs.” *Veterinary Parasitology* 175 (2011): 15–19.
- MAROLI M, PENNISI M G, DI MUCCIO T, KHOURY C, GRADONI L, GRAMICCIA M. “Infection of Sand Flies by a Cat Naturally Infected with *Leishmania Infantum*.” *Veterinary Parasitology*, no. 145 (2007): 357–360.
- MARTINETTI, L. “Dépistage Traitement et Prévention de La Leishmaniose Canine En Corse : Enquêtes Auprès Des Vétérinaires Praticiens de L’île.” Université Paul Sabatier, 2013, 100 p
- MAZELET L. “La Leishmaniose Canine Dans Le Bassin Méditerranéen Français.” Maîtrise de Biologie des Populations et des Ecosystèmes, Paris 6 : Université Pierre et Marie Curie VI, 2004. 31p
- MIREAUX, M, VILLAVERDE, C, HERVERA, M, et al. “Canine leishmaniasis and Xanthine urolithiasis : interest of a low purine diet, preliminary study on 13 dogs.” *revue vétérinaire clinique* 49, no. 1 (2014): 23–29.
- MIRO G, OLIVA G, CRUZ I, CANAVATE C, MORTARINOS M, VISCHER C, BIANCIARDI P. “Multicentric, Controlled Clinical Study to Evaluate Effectiveness and Safety of

miltefosine and allopurinol for Canine Leishmaniosis." *Veterinary Dermatology* 20 (2009): 397–404.

OLIVA G., ROURA X., CROTTI A., MAROLI M., CASTAGNARO M., GRADONI L., LUBAS G., PALTRINIERI S., ZATELI A., ZINI E. "Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs," *JAVMA*, 236, no. 11 (2010): 1192–98.

OLIVERA DA SILVA VO, BORJA-CABRERA GP, CORREIA PONTES NN, PARAGUAI DE SOUZA E, LUZ KG, PALATNIK M, PALATNIK DE SOUSA C.B (2001). A Phase III trial of Efficacy of the FML-vaccine against canine kala-azar in an endemic area of Brazil(São Gonç, alo do Amarante RN). *Vaccine*, **19**, 1082-1092

OZON C, MARTY P, PRATLONG F, BRETON C, BLEIN M, LELIEVRE A, HASS P. "Disseminated Feline Leishmaniosis due to *L.infantum* in Southern France." *Veterinary Parasitology*, no. 75 (1998): 273–77.

PALTRINIERI S., SOLANO-GALLEGO L., FONDATI A., LUBAS G., GRADONI L.,CASTAGNARO M., CROTTI A., MATOLI M., OLIVA G., ROURA X., ZATELLI A.,ZINI E. "Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis indogs," *Journal of the American Veterinary Medical Association (JAVMA)*, 236, no. 11 (2010): 1184–91.

PARADIES P., SASANELLI M., CAPRARIIS D., TESTINI G., TRAVERSA D., LIA RP., DANTAS-TORRES F., OTRANTO D. "Clinical and laboratory monitoring of dogs naturally infected by *Leishmania infantum*." *The Veterinary Journal*, 2010, 186 edition. 370-373 p

PETIT S. *Dictionnaire Médicaments Vétérinaires et Des Produits de Santé Animale Commercialisés en France*. 14ème ed. France: point vétérinaire, 2007, 1807p

RIOUX J-An, GOLVAN J-Y, CROSET H, TOUR S, HOUIN R, ABONNENC E et al. *Epidémiologie Des Leishmanioses Dans Le Midi de La France*. Les Leishmanioses. Chap 133. Paris, 1969.

RIOUX J-A, LA ROCQUE S "Climats, Leishmanioses et Trypanosomoses." *Annales de L'institut Pasteur Actualité*, no. 16 (2003): 41–56.

RODHAIN F, Perez, C. *Précis D'entomologie Médicale et Vétérinaire*. Paris: Maloine, 1985, 451 p

SOLANO-GALLEGO L., KOUTINAS A., MIRO G., CARDOSO L., PENNISI M.G.,FERRER L., BOURDEAU P., OLIVA G., BANETH G. "Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis." *Vet Parasitology*, 2009, elsevier masson édition, 165, 1-18

VIDAL. Le dictionnaire Vidal 2014. 90eme édition. Issy-les-Moulineaux : Vidal, 2014, 3284 p.

VITAL DURAND, D, LE JEUNNE, C. *Dorosz : Guide Pratique Des Médicaments*. 34 ème edition. Paris: Maloine, 2015, 1906 p.

WOERLY V., MAYNARD L., SANQUER A., EUN H.M. "Clinical Efficacy and Tolerance of Miltefosine in the Treatment of Canine Leishmaniosis." *Parasitology Research Journal* 105, no. 2 (2009): 463–469



SERMENT DE GALIEN

Je jure 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.

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

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

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

Que je sois méprisé de mes Confrères si je manque à mes engagements.



Diaha Ségolène

L'allopurinol dans la leishmaniose canine

Th. D. Pharm., Rouen, 2016, 153 p.

RESUME

En France, il y a environ 8 millions de chiens, ce chiffre permet de placer la France à la 5^{ème} place au niveau Européen en termes de population canine. Les chiens peuvent être affectés par différentes parasitoses dont la leishmaniose canine. Cette parasitose peut être rencontrée sur 4 continents différents et est constatée dans 88 pays. En France, cette maladie est retrouvée au niveau du pourtour méditerranéen. La leishmaniose canine est un parasite du système monocyte macrophage qui a pour réservoir principal le chien et qui est transmis par un moucheron hématophage : le phlébotome. Via son cycle, ce parasite peut se manifester sous différentes formes cliniques chez le chien allant de formes asymptomatiques et pouvant aller jusqu'à la mort.

Il existe plusieurs façons de diagnostiquer la leishmaniose par des techniques rapides au cabinet ou plus longues au laboratoire. Par ailleurs, il y a plusieurs thérapeutiques et moyens de prophylaxies pour traiter ou prévenir l'apparition de la maladie.

L'allopurinol est un traitement qui est utilisé en France pour soigner la goutte chez l'homme. C'est un analogue de l'hypoxanthine et un urico-frénateur. Il agit dans le catabolisme des bases puriques : adénine et guanine. L'allopurinol possède à la fois un rôle de substrat et est un inhibiteur compétitif de la xanthine oxydase. Cette molécule est métamorphosée via la xanthine oxydase en alloxanthine ou oxypurinol qui est également un inhibiteur non compétitif de la xanthine oxydase. De surcroît, cette molécule a donc des propriétés hypo-uricémiantes qui diminuent l'uricémie et l'uraturie tout en diminuant la fabrication de l'acide urique, par inhibition de la xanthine-oxydase. L'allopurinol possède différentes indications que ce soit pour la goutte, l'hyperuricémie ou encore des lithiases urinaires.

Les effets indésirables de l'allopurinol, sont de différents types mais se manifestent que dans 1% des cas. Le but de cette étude est donc de montrer comment l'allopurinol utilisé en médecine humaine pour la goutte et autres indications peut soigner la leishmaniose canine et également donner les recommandations actuelles pour soigner cette parasitose chez les chiens. Enfin, nous verrons à travers ce travail les règles hygiéno-diététiques permettant de renforcer les thérapeutiques et permettent un rétablissement complet du chien et éviter tous risques de rechutes.

MOTS CLES : leishmaniose – canine– allopurinol– traitement – parasite

JURY

Président : Mr FAVENNEC Loïc, Maître de conférences

Membres : Mr LARANT Jean-Christophe, Docteur en pharmacie

Mr AUBERT David, Docteur en Pharmacie

Mr LE GOFF Laetitia, Enseignant

DATE DE SOUTENANCE : 30 mai 2016