



HAL
open science

Étude rétrospective des cas de leishmaniose canine à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse entre 2010 et 2023

Barbara Malaterre

► **To cite this version:**

Barbara Malaterre. Étude rétrospective des cas de leishmaniose canine à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse entre 2010 et 2023. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04372265

HAL Id: dumas-04372265

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04372265v1>

Submitted on 4 Jan 2024

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.

ETUDE RETROSPECTIVE DES CAS DE LEISHMANIOSE CANINE DIAGNOSTIQUES AU CHUVAC DE L'ENVT SUR LES 10 DERNIERES ANNEES

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

**MALATERRE Barbara, Nathalie,
Stéphanie**

Directrice de thèse : Mme Emilie BOUHSIRA

JURY

PRESIDENTE :
Mme Séverine BOULLIER

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Emilie BOUHSIRA
M. Aurélien GRELLET

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Directeur du CHUVAC à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **COMBARROS Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **FUSADE-BOYER Maxime**, *Microbiologie et infectiologie*
- M. **GAIDE Nicolas**, *Anatomie pathologique*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
- M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
- Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **DELPONT Mattias**, *Clinique Aviaire*
- Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
- Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
- Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
- Mme **LAYSSOL-LAMOUR Catherine**, *Imagerie Médicale*
- Mme **POUJADE Agnès**, *Anatomie pathologique Vétérinaire*
- Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **RAMON PORTUGAL Felipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*
- Mme **SAADA Chloé**, *Gestion intégrée de la santé des ruminants*

Remerciements

A Madame le Docteur Séverine BOULLIER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Immunologie générale et médicale

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse, je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements.

A Madame le Docteur Emilie BOUHSIRA

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et Maladies Parasitaires

Pour m'avoir encadrée tout au long de cette thèse, pour ses conseils et sa disponibilité, je tiens lui à exprimer mes plus sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Aurélien GRELLET

Directeur du Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire des Animaux de Compagnie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pour m'avoir apporté toute l'aide dont j'avais besoin pour l'extraction des données et pour sa disponibilité, je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements.

A Madame le Docteur Amélie MUGNIER

Ingénieure de recherche

Pour m'avoir aidée pour l'extraction et le traitement des données ainsi que pour sa disponibilité, je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements.

Table des matières

Introduction	17
PARTIE 1 : Etude bibliographique	19
I - Etiologie de la leishmaniose	19
1 - Le parasite : <i>Leishmania infantum</i>	19
1.1 Taxonomie	19
1.2 Morphologie	19
1.3 Cycle de vie.....	21
2 - Le vecteur : le phlébotome	23
2.1 Taxonomie	23
2.2 Morphologie	23
2.3 Biologie	24
2.3.1 Habitat en France	24
2.3.2 Activité	24
2.3.3 Régime alimentaire	25
2.3.4 Cycle évolutif	25
II - Epidémiologie	26
1 - Espèces touchées	26
2 – Modalités de transmission	26
3 - Répartition géographique	27
3.1 Répartition mondiale	27
3.2 Répartition en Europe	28
3.3 Répartition en France	31
III. Physiopathologie de la leishmaniose.....	33
IV. La leishmaniose canine.....	35
1 - Facteurs de risque.....	35
1.1 La race	35

1.2 Le sexe	36
1.3 L'âge	36
1.4 Mode de vie.....	37
1.5 Mesures prophylactiques.....	37
2 - Signes cliniques de la leishmaniose canine	37
2.1 Signes cliniques généraux.....	39
2.2 Signes cutanéomuqueux.....	42
2.3 Signes oculaires	44
2.4 Atteinte rénale	45
2.5 Troubles ostéoarticulaires	46
2.6 Troubles digestifs	46
2.7 Autres manifestations cliniques	47
3 - Signes biologiques de la leishmaniose canine	48
3.1 Modifications hématologiques et hémostatiques	48
3.2 Modifications biochimiques.....	49
3.3 Modifications de l'analyse d'urine	51
4 - Techniques de diagnostic étiologique	52
4.1 Tests de diagnostic direct.....	53
4.1.1 La cytologie	53
4.1.2 L'histologie.....	54
4.1.3 La « Polymerase Chain Reaction » (PCR)	54
4.1.4 La « Loop-Mediated Isothermal Amplification » (LAMP).....	56
4.1.5 Le xénodiagnostic.....	56
4.1.6 La culture des leishmanies	57
4.2 Tests de diagnostic indirect utilisés couramment.....	57
4.2.1 L'immunofluorescence indirecte (IFI)	58
4.2.2 L'ELISA (« Enzyme-Linked Immunosorbent Assay »).....	58

4.2.3 L'immunochromatographie.....	59
4.3 Démarche diagnostique	59
5 - Classification clinique des chiens	61
5.1 Classification clinique proposée par le groupe LeishVet.....	61
5.1.1 Stade I : maladie légère	62
5.1.2 Stade II : maladie moyenne	62
5.1.3 Stade III : maladie grave	63
5.1.4 Stade IV : maladie très grave.....	63
5.2 Classification clinique proposée par le « Canine Leishmaniasis Working Group » (CLWG).....	63
5.2.1 Stade A : les chiens exposés.....	64
5.2.2 Stade B : les chiens infectés	64
5.2.3 Stade C : les chiens malades.....	65
5.2.4 Stade D : les chiens sévèrement malades	65
6 - Traitement	65
6.1 Traitement spécifique : molécules utilisées	65
6.1.1 L'antimoniote de méglumine	66
6.1.2 L'allopurinol	67
6.1.3 La miltéfosine.....	68
6.1.4 Le traitement de consensus : l'association de l'antimoniote de méglumine et de l'allopurinol.....	69
6.1.5 Autres traitements.....	69
6.2 Protocoles de traitement.....	71
6.3 Pronostic	72
6.4 Suivi	73
7 - Mesures préventives.....	75
7.1 Lutte anti-vectorielle	76
7.1.1 Traitement de l'environnement.....	76

7.1.2 Antiparasitaires externes	76
7.2 Vaccinations	77
PARTIE 2 : Etude rétrospective des cas de leishmaniose canine diagnostiqués entre 2010 et 2023 à l'ENVT	79
I - Matériel et méthode	79
1 - Acquisition des données du logiciel clientèle du CHUVAC, CLOVIS	79
1.1 Définition de la population d'étude.....	79
1.1.1 Critères d'inclusion	79
1.1.2 Critères d'exclusion	80
1.2 Pré-sélection des données	80
2 - Traitement préalable des données sélectionnées	82
2.1 Tri et sélection des données.....	82
2.2 Variables étudiées.....	83
2.2.1 Anamnèse et commémoratifs	83
2.2.2 Service du CHUVAC consulté.....	84
2.2.3 Présentations cliniques à l'admission.....	85
2.2.4 Anomalies des examens de laboratoire	86
2.2.5 Tests diagnostiques utilisés à l'ENVT	86
2.3 Description de la base de données finale	87
II - Résultats.....	88
1 - Description de la population canine sélectionnée	88
1.1 Répartition selon le sexe et le statut stérilisé	88
1.2 Répartition selon la race.....	88
1.3 Répartition selon l'âge au moment du diagnostic	90
1.4 Répartition selon le passage dans une zone endémique.....	91
1.5 Répartition géographique	92
2 - Motifs de consultation	95

3 - Présentations cliniques à l'admission	96
4 - Anomalies biologiques.....	97
5 - Méthodes de diagnostic utilisées	98
6 - Gradation clinique selon le groupe LeishVet.....	99
III - Discussion.....	101
1 - Biais de sélection.....	101
2 – Anamnèse et commémoratifs	101
3 – Modifications cliniques et analyses de laboratoires	103
4 – Tests diagnostiques utilisés	104
Conclusion	105
Bibliographie	108

Figures

Figure 1 : Formes amastigotes de <i>Leishmania infantum</i> dans un macrophage. Ponction d'un nœud lymphatique coloré au May-Grünwald Giemsa (Beugnet et al. 2021).....	20
Figure 2 : Représentation schématique des formes promastigote et amastigote de <i>Leishmania infantum</i> (Rodriguez et al. 2017)	20
Figure 3 : Cycle évolutif de <i>Leishmania infantum</i> (Beugnet et al. 2021).....	22
Figure 4 : Phlébotome femelle (Killick-Kendrick 1999).....	23
Figure 5 : Illustration des deux types de réponses immunitaires possibles après infection par <i>Leishmania infantum</i> chez les chiens (Baneth et al. 2008).....	35
Figure 6 : État cachectique avec dermatite exfoliative généralisée et ulcérations sur plusieurs protubérances osseuse (Koutinas, Koutinas 2014)	41
Figure 7 : Atrophie sévère et symétrique des muscles temporaux due à une myosite musculaire masticatoire chronique (Koutinas, Koutinas 2014).....	41
Figure 8 : Amyotrophie et alopecie chez un chien leishmanien (Beugnet et al. 2021)	41
Figure 9 : Epistaxis (Solano-Gallego et al. 2011)	41
Figure 10 : Dermatite exfoliative sur le membre pelvien gauche et adénomégalie du nœud lymphatique poplité gauche (Solano-Gallego et al. 2011)	42
Figure 11 : Squamosis important sur la tête et le pavillon de l'oreille avec squames épaisses et brillantes (Beugnet et al. 2021)	43
Figure 12 : Ulcères sur la truffe d'un chien (Beugnet et al. 2021)	43
Figure 13 : Dermatite exfoliative multifocale (Baneth et al. 2008)	43
Figure 14 : Onychogryphose (Baneth et al. 2008)	43
Figure 15 : Blépharite nodulaire et ulcéreuse, conjonctivite purulente et uvéite antérieure avec opacité cornéenne et néovascularisation (Koutinas, Koutinas 2014)	44
Figure 16 : Uvéite antérieure aiguë avec un œdème cornéen secondaire (Pena, Roura, Davidson 2000)	44
Figure 17 : Décollement rétinien complet de l'œil gauche (Pena, Roura, Davidson 2000).....	45
Figure 18 : Blépharite diffuse (Pena, Roura, Davidson 2000)	45

Figure 19 : Deux nodules cutanés sur la région du canthus médial, représentant les sites de pique par les phlébotomes (Pena, Roura, Davidson 2000)	45
Figure 20 : Conjonctivite avec épaissement proéminent de la conjonctive bulbaire ventrale (Pena, Roura, Davidson 2000)	45
Figure 21 : Electrophorèse des protéines sériques chez un chien sain (A) et chez des chiens présentant une leishmaniose clinique (B-F) (Paltrinieri et al. 2016)	51
Figure 22 : Organigramme illustrant l'approche diagnostique recommandée pour les chiens asymptomatiques, vivants ou ayant voyagés dans une zone endémique, et pour les chiens présentant des signes cliniques compatibles avec la leishmaniose (Paltrinieri et al. 2016)	61
Figure 23 : Diagramme de flux	83

Tableaux

Tableau 1 : Distribution géographique des principales espèces de leishmanies infectant les chiens et leurs vecteurs (Solano-Gallego et al. 2009).....	28
Tableau 2 : Prévalence et incidence de leishmaniose canine chez les chiens fréquentant des cliniques vétérinaires sur une période de 12 mois (2012-2013) en France, en Grèce, en Italie, au Portugal et en Espagne (Mattin et al. 2014).....	30
Tableau 3 : Signes cliniques et lésions pouvant être détecté lors de l'examen clinique de chiens atteints de leishmaniose (Paltrinieri et al. 2010)	38
Tableau 4 : Principaux signes cliniques retrouvés chez les chiens atteints de leishmaniose (Baneth et al. 2008)	39
Tableau 5 : Antiparasitaires externes ayant une AMM vis-à-vis des phlébotomes disponibles en France	77
Tableau 6 : Effectifs des races représentées dans l'étude	88
Tableau 7 : Pourcentage des signes cliniques spécifiques retrouvés à l'examen clinique des 109 chiens inclus dans l'étude	97

Graphiques

Graphique 1 : Évolution du nombre annuel de déclarations de cas de leishmanioses autochtones faites au CNRL entre 1999 et 2011 (Dedet et al. 2013).....	31
Graphique 2 : Statut physiologique (stérilisé ou non) selon le sexe (n = 109).....	88
Graphique 3 : Boite à moustache représentant les âges des chiens inclus dans l'étude (n = 109)	90
Graphique 4 : Répartition selon le stade physiologique de vie de l'animal (n = 109)	91
Graphique 5 : Nombre de chiens vivant ou ayant voyagé dans une zone endémique ou non (n = 109).....	91
Graphique 6 : Nombre de diagnostic de leishmaniose par service du CHUVAC (n = 109).....	95
Graphique 7 : Nombre de diagnostic par an et répartition selon le service du CHUVAC consulté (n = 109)	96
Graphique 8 : Pourcentage des types d'anomalies retrouvées à l'examen clinique initial chez les 109 chiens inclus dans l'étude.....	96
Graphique 9 : Pourcentage d'examens complémentaires anormaux et nombre d'examens complémentaires réalisés.....	98
Graphique 10 : Premier(s) test(s) utilisé(s) pour diagnostiquer la leishmaniose (n = 109).....	98
Graphique 11 : Tests diagnostiques utilisés en 2 ^{ème} intention (n = 18)	99
Graphique 12 : Stades cliniques selon la classification du groupe LeishVet des chiens inclus dans l'étude lors de la première consultation (n = 109)	100

Abréviations

ADN – Acide Désoxyribonucléique

ALAT – Alanine Aminotransférase

aPTT – Activated Partial Thromboplastin Time = Temps de Céphaline Activé

CHUVAC – Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire des Animaux de Compagnie

CLWG – Canine Leishmaniasis Working Group

CK – Créatine-Kinase

Cys-C – C-Cystéine

EDTA – Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ENVT – Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

GGT – Gamma-Glutamyl Transférase

IFI – Immunofluorescence Indirecte

IFN- γ – Interféron-gamma

IL-2 – Interleukine-2

IL-4 – Interleukine-4

IL-10 – Interleukine-10

IRIS – International Renal Interest Society

LAMP – Loop-Mediated Isothermal Amplification

LCR – Liquide Céphalo-Rachidien

LDH – Lactate Deshydrogénase

MGG – May-Grünwald Giemsa

NO – Oxyde Nitrique

OIE – Organisation Mondiale de la Santé Animale

PAL – Phosphatases Alcalines

PCR – Polymerase Chain Reaction

PT – Temps de Prothrombine

RCPU – Rapport Créatinine sur Protéine Urinaires

SDMA – Symétrique Diméthylarginine

TGF- β – Transforming Growth Factor bêta

TNF- α – Tumor Necrosis Factor alpha

VIH – Virus de l'Immunodéficience Humain

Introduction

La leishmaniose canine est une maladie parasitaire zoonotique présente dans de nombreux pays du monde notamment dans le Sud de l'Europe, dont l'Espagne, le Portugal, l'Italie et la France (Solano-Gallego et al. 2011). Cette maladie semble en extension vers le Nord de l'Europe, notamment en lien avec le réchauffement climatique des dernières années couplé aux déplacements d'animaux infectés.

Le protozoaire *Leishmania infantum* est la principale espèce incriminée actuellement en Europe (Antinori, Schifanella, Corbellino 2012) et est un parasite des cellules du système phagocytaire mononucléé (Beugnet et al. 2021). Le chien est le principal réservoir de ce parasite, même s'il peut être transmis à d'autres mammifères dont l'Homme (Alemayehu, Alemayehu 2017). Les phlébotomes femelles sont les vecteurs biologiques causant la transmission du parasite lors des piqûres. La leishmaniose canine est une maladie complexe pouvant être subclinique, spontanément résolutive ou grave et parfois mortelle (Solano-Gallego et al. 2011). Le tableau clinique est variable et très polymorphe en raison des différents organes, tissus ou liquides biologiques touchés et de la diversité des réponses immunitaires.

En France, la distribution de la leishmaniose canine est hétérogène. D'après les dernières études épidémiologiques, elle est endémique dans les Pyrénées-Orientales, les Cévennes, la Provence, la Côte d'Azur et la Corse (Dedet et al. 2013) et semble se propager dans les contreforts des Alpes et des Pyrénées (Baneth et al. 2008; Bourdoiseau, Chermette 2015). La séroprévalence dans la région méditerranéenne française varie entre 2% et 40% (Paltrinieri et al. 2010). Cependant, aucune étude n'a été réalisée dans le Sud-Ouest de la France notamment dans la région toulousaine, et peu de données sont ainsi disponibles sur l'évolution de la maladie dans ce territoire au cours des années.

L'objectif général de ce travail de thèse est de contribuer indirectement à l'étude de la prévalence de la leishmaniose clinique en région toulousaine, en analysant les profils épidémio-cliniques des chiens diagnostiqués leishmaniens à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) au cours des dix dernières années, après avoir été référés par un vétérinaire traitant ou venant pour une première exploration de la maladie directement à l'ENVT. Nous avons ainsi (i) localisé les lieux de vie de ces chiens, en différenciant les cas importés de zones endémiques ou y ayant voyagé et

les cas autochtones et (ii) comparé les signes cliniques retrouvés chez ces chiens avec ceux de la littérature, de manière à dresser un profil « type » du chien leishmanien vu en consultation à l'ENVT.

PARTIE 1 : Etude bibliographique

I - Etiologie de la leishmaniose

1 - Le parasite : *Leishmania infantum*

1.1 Taxonomie

Les leishmanies sont des protozoaires flagellés appartenant à l'ordre des Kinetoplastidae, à la famille des Trypanosomatidae et au genre *Leishmania*. Elles sont caractérisées par la présence d'un kinétoplaste contenant de l'ADN mitochondrial (Sharma, Singh 2008).

En France, *Leishmania infantum* est la seule espèce de leishmanie présente sur le territoire et donc la seule infectant les chiens (Solano-Gallego et al. 2009; Antinori, Schifanella, Corbellino 2012).

1.2 Morphologie

Au cours de son cycle évolutif, *L. infantum* présente deux formes morphologiques successives distinctes : la forme amastigote intracellulaire et dépourvue de flagelle chez l'hôte vertébré et la forme promastigote extracellulaire flagellée chez le vecteur (Beugnet et al. 2021).

Les amastigotes sont de forme ovale, mesurent 3-4 x 2 µm et contiennent un noyau volumineux et un kinétoplaste en forme de bâtonnet. Ils se trouvent au sein d'une vacuole parasitophore dans les cellules phagocytaires mononucléées, dont les macrophages dans lesquels leur observation est possible après coloration au May-Grünwald Giemsa (MGG) (**Figure 1**). Ils survivent à la phagocytose et au stress oxydatif puis se multiplient par division binaire longitudinale. Cette forme peut alors se retrouver dans le derme, les nœuds lymphatiques, la moelle osseuse, la rate, le foie, le liquide céphalo-rachidien (LCR) ou d'autres organes et liquides biologiques de l'hôte mammifère (Beugnet et al. 2021).

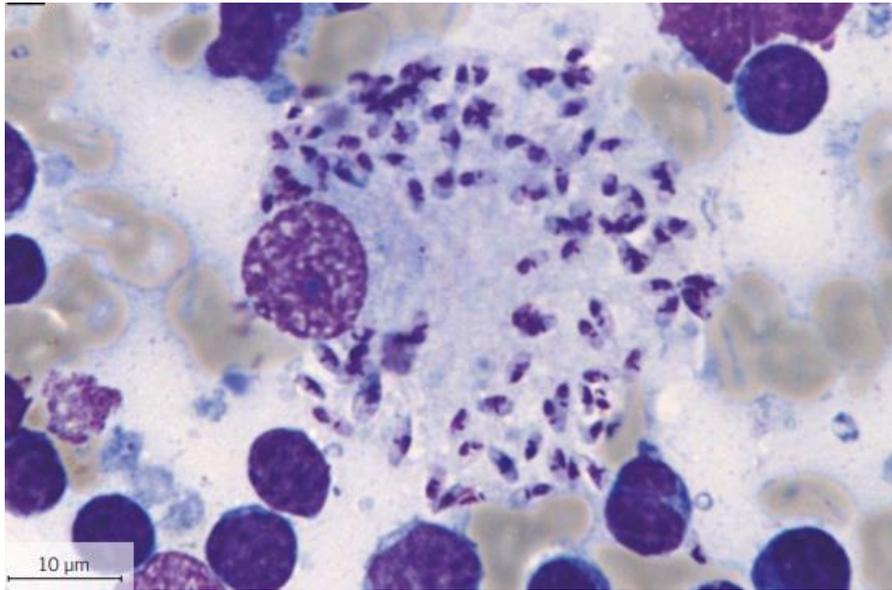


Figure 1 : Formes amastigotes de *Leishmania infantum* dans un macrophage. Ponction d'un nœud lymphatique coloré au May-Grünwald Giemsa (Beugnet et al. 2021)

Les promastigotes sont de forme fusiforme et mesurent 15-20 μm de long et 1,5-3,5 μm de large. Ils possèdent un noyau central, un kinétoplaste antérieur ainsi qu'un flagelle libre visible à l'extrémité antérieure (Rodriguez et al. 2017).

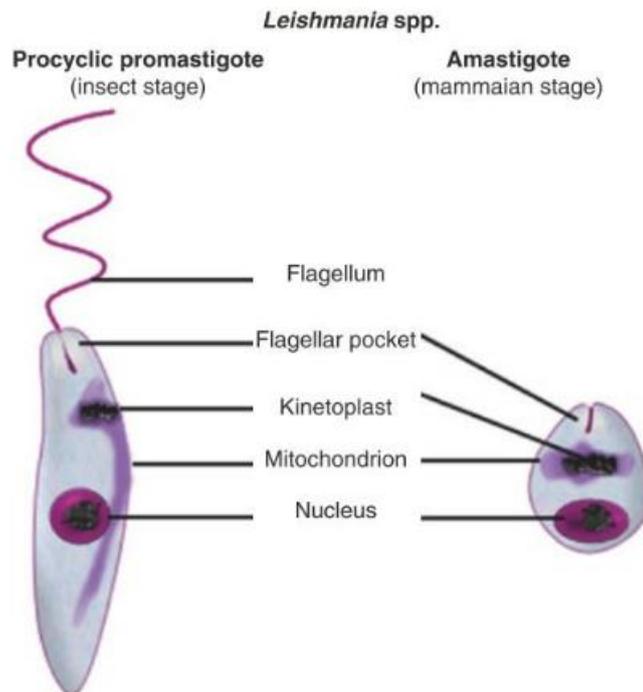


Figure 2 : Représentation schématique des formes promastigote et amastigote de *Leishmania infantum* (Rodriguez et al. 2017)

1.3 Cycle de vie

Le cycle évolutif de *L. infantum* est un cycle dixène, faisant intervenir des phlébotomes, vecteurs biologiques, et de nombreux hôtes vertébrés, dont notamment le chien (**Figure 3**).

Lors d'un repas sanguin d'une femelle phlébotome infectée, les promastigotes sont régurgités dans la peau et sont phagocytés par des cellules du système des phagocytes mononucléés (macrophages, histiocytes, ...) pour se retrouver dans un phagosome qui aboutira à la formation d'un phagolysosome après fusion avec un lysosome. Les parasites évoluent en amastigotes en 12 à 24 heures après l'inoculation et se multiplient par division binaire, en échappant aux défenses non spécifiques des macrophages, jusqu'à l'éclatement de ceux-ci. Les amastigotes contaminent alors d'autres cellules phagocytaires et finissent par coloniser tout l'organisme. Ce stade peut durer quelques mois à plusieurs années, voire toute la vie de l'animal, sans signes cliniques ou symptômes notables, selon la sensibilité de l'hôte et son statut immunitaire (Sharma, Singh 2008).

La transmission du parasite d'un chien infecté à une femelle phlébotome non infectée se réalise au cours de son repas sanguin. Les phlébotomes sont hémophages, ils créent alors des « lacs » hémolymphatiques lors des piqûres et ingèrent à ce moment-là des macrophages, infectés par des amastigotes, présents dans la peau. Ces amastigotes se retrouvent ensuite dans l'intestin moyen de l'insecte, où ils prennent leur forme promastigote en 24 à 48 heures puis se multiplient par division binaire (Léger, Depaquit 2001; Bates 2007; Sharma, Singh 2008). La phase exogène dure 15 à 20 jours, selon la température, après laquelle la femelle phlébotome reste infectée toute sa vie.

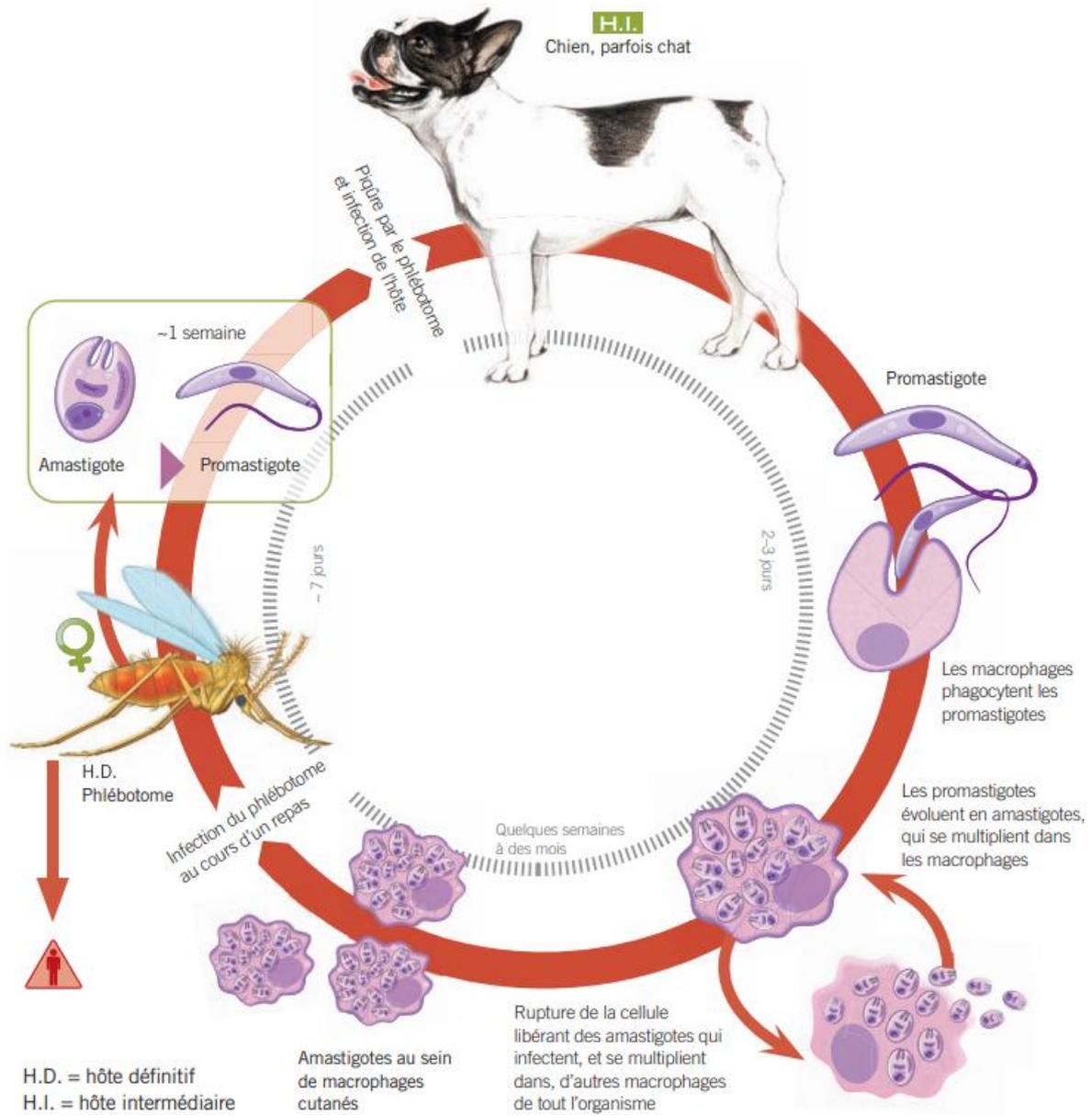


Figure 3 : Cycle évolutif de *Leishmania infantum* (Beugnet et al. 2021)

La survie du parasite pendant l'hiver est permise principalement par les chiens infectés (réservoirs) car aucune transmission transovarienne des leishmanies n'a été démontrée chez les vecteurs (Solano-Gallego et al. 2009).

2 - Le vecteur : le phlébotome

2.1 Taxonomie

Les phlébotomes sont des diptères nématocères (seule la femelle est hématoophage) de la famille des Psychodidae, de la sous famille des Phlebotaminae, du genre *Phlebotomus* dans l'ancien monde et du genre *Lutzomyia* dans le nouveau monde (Amérique centrale et Amérique du Sud). On considère actuellement environ 600 espèces connues mais seulement 10% d'entre elles sont vectrices d'agents infectieux, et 30 d'entre elles sont importantes d'un point de vue de santé publique (Sharma, Singh 2008).

En France, deux principales espèces de vecteurs transmettant *L. infantum* sont rapportées : *Phlebotomus ariasi* et *Phlebotomus perniciosus* (Solano-Gallego et al. 2009).

2.2 Morphologie

Les adultes mesurent 2 à 3 mm de long, ont une couleur grisâtre et présentent un corps d'aspect bossu et recouvert de soies. Ils possèdent une paire d'ailes lancéolées dressées en forme de V au repos et trois paires de pattes (**Figure 4**) (Killick-Kendrick 1999; Léger, Depaquit 2001; Sharma, Singh 2008).

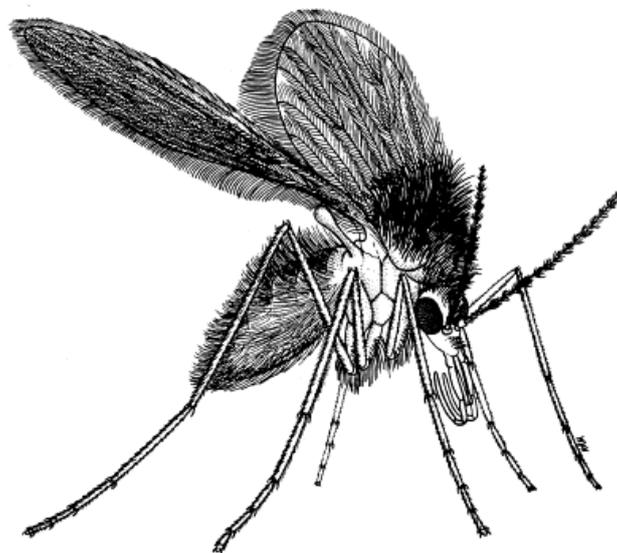


Figure 4 : Phlébotome femelle (Killick-Kendrick 1999)

2.3 Biologie

2.3.1 Habitat en France

Pendant la journée, les phlébotomes se cachent dans des niches écologiques où le microclimat est favorable. Ce sont des zones sombres et relativement humides, comme dans des terriers, des fissures dans les murs, les roches ou le sol, des crevasses, des grottes, des caves, des écuries, ... (Léger, Depaquit 2001; Sharma, Singh 2008; Prudhomme 2015).

Phlebotomus ariasi est retrouvé jusqu'à 1 415 m d'altitude dans les Pyrénées Orientales alors que *P. perniciosus* occupe des altitudes plus basses, retrouvé jusqu'à 640 m dans les Pyrénées Orientales (Rioux et al. 1967; Prudhomme 2015).

2.3.2 Activité

Dans les zones tempérées, les phlébotomes sont actifs du printemps jusqu'à la fin de l'automne. Leur activité est nocturne ou crépusculaire lorsque la température est suffisante, au-delà de 19-20°C (Léger, Depaquit 2001; Prudhomme 2015). Etant de mauvais insectes volants, leur portée de vol est seulement de quelques kilomètres et ils sont incapables de voler en présence de vent, lorsque la vitesse de celui-ci est supérieure à un mètre par seconde (Sharma, Singh 2008). Leur dispersion maximale dépasse rarement un kilomètre sauf pour *P. ariasi* qui peut parcourir activement plus de deux kilomètres (Killick-Kendrick 1999). Ils peuvent en revanche être dispersés passivement par les vents.

Phlebotomus ariasi est principalement exophile et anthropophile. Cependant, il pénètre dans les maisons la nuit en raison de son phototropisme positif. Il est présent entre début mai et octobre avec un pic d'abondance en juillet et août. *Phlebotomus perniciosus* est endophile, il est retrouvé à l'intérieur des maisons, dans les écuries et les clapiers. Son activité est maximale en été (Rioux et al. 1967; Killick-Kendrick 1999; Prudhomme 2015).

2.3.3 Régime alimentaire

Les phlébotomes mâles et femelles se nourrissent de sources naturelles de sucre telles que la sève des plantes et le miellat des pucerons. Les femelles se nourrissent également de sang par telmophagie pour la production d'œufs (Killick-Kendrick 1999). Les piqûres sont principalement retrouvées sur les zones glabres chez le chien comme sur la tête, l'arête nasale, les pavillons des oreilles et les zones inguinales et périanales (Solano-Gallego et al. 2009).

2.3.4 Cycle évolutif

L'accouplement des phlébotomes intervient avant, après ou pendant le repas sanguin selon les espèces et dure entre 30 secondes et 5 minutes. Les œufs sont par la suite déposés dans des endroits où les larves pourront trouver de la matière organique, la chaleur et l'humidité nécessaires à leur développement comme les terriers, l'écorce de vieux arbres, les fissures des murs, les ordures ménagères. Ils éclosent en sept à dix jours. Quatre stades larvaires se succèdent sur une durée de trois semaines avant la nymphose. La nymphe se fixe alors au substrat par l'intermédiaire de la dernière exuvie larvaire qui persiste en partie postérieure de l'abdomen. L'adulte émerge sept à dix jours plus tard. En l'absence de diapause hivernale, le développement de la larve à l'adulte dure entre 35 à 60 jours. La diapause hivernale s'effectue au stade de l'œuf ou au quatrième stade larvaire. La durée de vie des adultes dépend de la température et de l'humidité. Les femelles vivent en moyenne deux semaines à deux mois alors que les mâles ont une durée de vie plus courte (Killick-Kendrick 1999; Léger, Depaquit 2001).

II - Epidémiologie

1 - Espèces touchées

La leishmaniose causée par *L. infantum* infecte de nombreuses espèces. Le chien, *Canis familiaris*, est considéré comme le principal réservoir domestique du parasite. Les canidés sauvages (renards, chacals, loups, ...), les rongeurs et les lagomorphes représentent les principaux réservoirs sauvages. Des cas ont aussi été signalés chez les félidés, les primates, les marsupiaux, les chiroptères et les équins dans des régions endémiques de la maladie (Gramiccia, Gradoni 2005; Baneth et al. 2008; Solano-Gallego et al. 2009; Alemayehu, Alemayehu 2017).

2 – Modalités de transmission

Les phlébotomes sont les seuls vecteurs biologiques de *L. infantum*. Néanmoins, d'autres modalités de transmission ont été décrites chez le chien mais sont considérées comme marginales dans l'épidémiologie de la maladie (Solano-Gallego et al. 2009). Ces autres modes sont la transmission transplacentaire (Rosypal et al. 2005), vénérienne (Silva et al. 2009), sanguine par transfusion qui est particulièrement préoccupante dans les régions endémiques (De Freitas et al. 2006) ou encore par morsure (Naucke, Amelung, Lorentz 2016). Ces transmissions, notamment lors du coït et *in utero* ont été à l'origine de micro-épidémies dans des élevages de foxhounds dans l'état de New York, aux Etats-Unis en l'absence de transmission vectorielle active et suite à une importation de reproducteurs depuis l'Europe. L'infection transplacentaire semble par ailleurs rapportée plus fréquemment chez les foxhounds que chez les beagles ou les basset hounds (Duprey et al. 2006). La transmission par d'autres parasites hématophages, comme les tiques et les puces, a été investiguée expérimentalement mais n'a jamais été démontrée dans des conditions naturelles (Coutinho et al. 2005; Coutinho, Linardi 2007). A l'heure actuelle, seuls les phlébotomes sont considérés comme des vecteurs biologiques de *L. infantum*, et les seuls arthropodes à intervenir dans l'épidémiologie de la maladie.

3 - Répartition géographique

La propagation de l'infection canine par *L. infantum* peut être rapide lorsque les conditions sont favorables à la transmission de la maladie, c'est-à-dire dans les zones où les phlébotomes et les chiens sont présents en densité élevée (Baneth et al. 2008). En effet, une étude montre qu'une cohorte de chiens naïfs exposés à trois saisons de transmission consécutives à Naples, en Italie, est passée de 23,3% de chiens positifs par PCR à 97,3%. Le nombre d'animaux séropositifs a aussi augmenté de 15,8% à 77,8% durant cette étude. Ce phénomène de propagation rapide est attribué à la forte densité de vecteurs dans le foyer donné ainsi qu'à l'absence de mesures de prévention (Oliva et al. 2006).

3.1 Répartition mondiale

La leishmaniose humaine est endémique dans les régions tropicales et tempérées de 98 pays, notamment ceux ayant un indice de développement humain (IDH) faible. L'IDH est un indicateur créé par le Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD) visant à évaluer le taux de développement humain des pays du monde en s'appuyant sur l'espérance de vie, l'accès à l'éducation et à la culture et le niveau de vie. La prévalence mondiale recensée est de 12 millions de cas et l'incidence est de 1,5 à 2 millions de nouveaux cas par an sur 350 millions de personnes à risque d'infection (Rombolà et al. 2021). Il existe plusieurs espèces de leishmanies pouvant engendrer chez l'Homme des signes cutanés (*L. tropica*, *L. major*, *L. infantum*, *L. aethiopica*, *L. braziliensis*, *L. mexicana*, *L. amazonensi*, *L. panamensis*), cutanéomuqueux (*L. braziliensis*, *L. panamensis*) ou viscéraux (*L. infantum*, *L. chagasi*, *L. donovani*) (Mellano 2016). Plus de 90% des cas mondiaux de leishmaniose viscérale surviennent en Inde, au Bangladesh, au Soudan, au Soudan du Sud, au Brésil et en Éthiopie. Alors que la leishmaniose cutanée est plus répandue, étant retrouvée en Amérique, dans le bassin méditerranéen, en Asie occidentale et centrale et au Moyen-Orient (Alvar et al. 2012). L'espèce principale présente en Europe est *L. infantum* responsable chez l'Homme de cas de leishmaniose viscérale (Dedet et al. 2013).

La leishmaniose canine est retrouvée dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales de l’Ancien et du Nouveau Monde (**Tableau 1**) (Solano-Gallego et al. 2009).

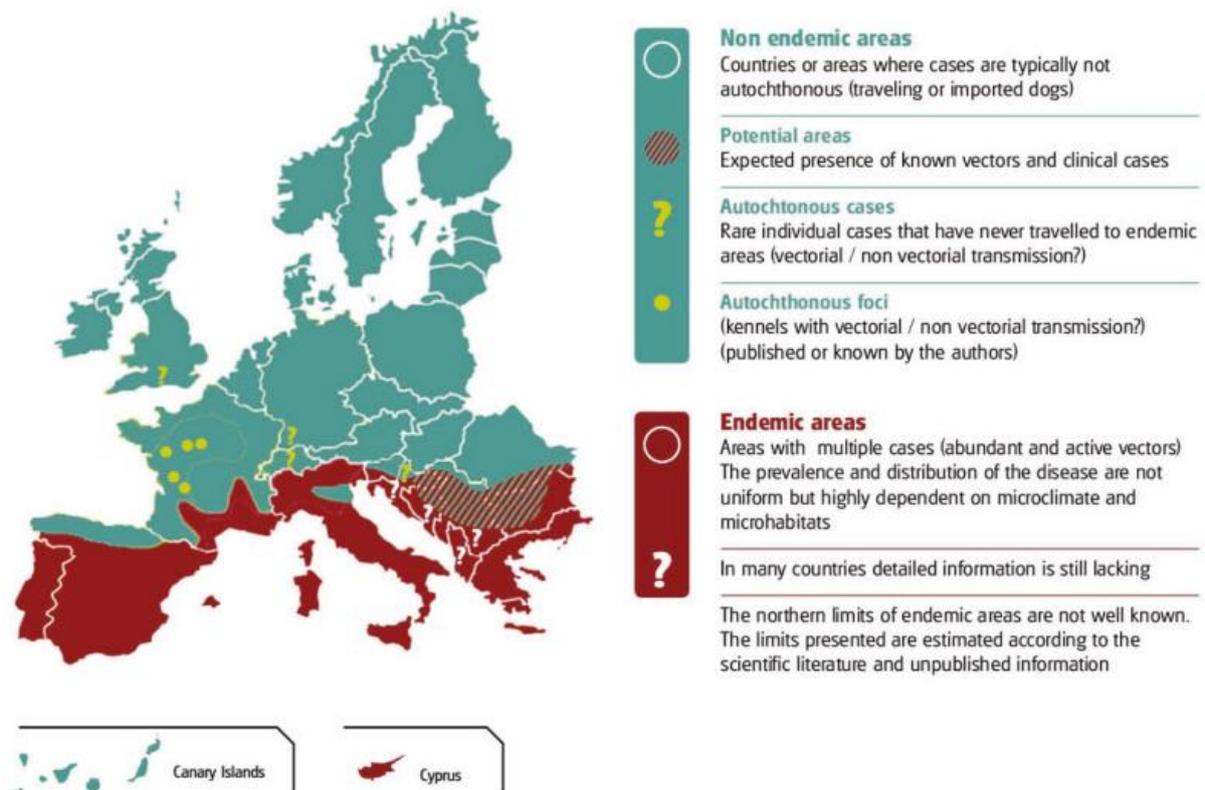
Tableau 1 : Distribution géographique des principales espèces de leishmanies infectant les chiens et leurs vecteurs (Solano-Gallego et al. 2009)

Espèces de leishmanies	Distribution géographique	Vecteurs prouvés
<i>Leishmania infantum</i>	Bassin méditerranéen Moyen-Orient Asie du Sud, Iran, Arménie, Afghanistan Asie centrale, Chine	<i>Phlebotomus perniciosus</i> , <i>P. ariasi</i> , <i>P. perfiliewi</i> , <i>P. neglectus</i> , <i>P. langeroni</i> , <i>P. tobbi</i> <i>P. kandelakii</i> <i>P. chinensis</i> , <i>P. alexandri</i>
<i>Leishmania infantum</i> = <i>Leishmania chagasi</i>	Amérique centrale et du Sud	<i>Lutzomyia longipalpis</i> , <i>Lu. evansi</i> , <i>Lu. olmeca olmeca</i>
<i>Leishmania donovani</i>	Afrique de l’Est	<i>P. orientalis</i> , <i>P. martini</i>
<i>Leishmania tropica</i>	Afrique du Nord	<i>P. orientalis</i> , <i>P. martini</i>
<i>Leishmania braziliensis</i>	Amérique centrale et du Sud	<i>Lu. wellcomei</i> , <i>Lu. spinicrassa</i> , <i>Lu. whitmani</i> , <i>Lu. yucumensis</i> , <i>Lu. carrerai carrerai</i> , <i>Lu. llanosmartinsi</i> , <i>Lu. ovallesi</i> , <i>Lu. intermedia</i> , <i>Lu. gomezi</i> , <i>Lu. trapidoi</i> , <i>Lu. ylephiletor</i> , <i>Lu. umbratilis</i>
<i>Leishmania peruviana</i>	Andes péruviennes	<i>Lu. peruensis</i> , <i>Lu. verrucarum</i> , <i>Lu. ayacuchensis</i>
<i>Leishmania panamensis</i>	Amérique centrale	<i>Lu. trapidoi</i> , <i>Lu. ylephiletor</i> , <i>Lu. gomezi</i> , <i>Lu. panamensis</i> , <i>Lu. hartmanni</i>

3.2 Répartition en Europe

La leishmaniose à *L. infantum* est présente dans le bassin méditerranéen et touche particulièrement l’Italie, l’Espagne, l’Albanie et la Turquie avec une incidence annuelle de leishmaniose viscérale estimée entre 160 et 240 nouveaux cas (Rombolà et al. 2021).

La prévalence de l'infection canine est estimée à 2,5 millions dans le Sud-Ouest de l'Europe. La maladie se propage vers le nord de l'Europe (Baneth et al. 2008) avec des cas cliniques également signalés dans des pays non endémiques comme le Royaume-Uni et l'Allemagne du fait de l'importation de chiens provenant de zones endémiques ou de voyages depuis le Sud de l'Europe (Solano-Gallego et al. 2011).



Carte 1 : Distribution de l'infection canine à *Leishmania infantum* en Europe
(Solano-Gallego et al. 2011)

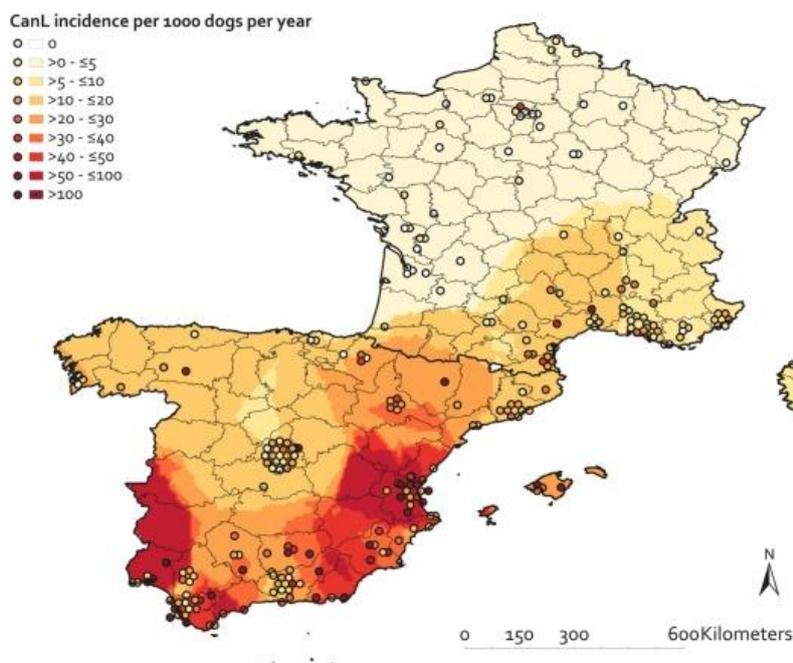
La prévalence dans les pays méditerranéens varie de 2 à 30% selon les études. Mais certains pays considérés comme des foyers hyper-endémiques, où la majorité de la population canine peut être infectée comme en Grèce ou en Turquie, ont signalé une prévalence de 50% ou plus (Beugnet et al. 2021; Rombolà et al. 2021).

Mattin et al. (2014) ont estimé la prévalence nationale de leishmaniose canine diagnostiquée chez les vétérinaires en France, en Espagne, au Portugal, en Italie et en Grèce (**Tableau 2**). Selon ces auteurs, elle varie de 0,71% en France à 7,80% en Grèce.

Tableau 2 : Prévalence et incidence de leishmaniose canine chez les chiens fréquentant des cliniques vétérinaires sur une période de 12 mois (2012-2013) en France, en Grèce, en Italie, au Portugal et en Espagne (Mattin et al. 2014)

Pays	Prévalence nationale % (IC à 95%)	Incidence nationale pour 1000 chiens (IC à 95%)
France	0,71 (0,69 à 0,73)	4,6 (4,5 à 4,8)
Grèce	7,80 (7,58 à 8,03)	56,3 (54,3 à 58,2)
Italie	4,33 (4,16 à 4,50)	22,6 (21,0 à 24,3)
Portugal	2,92 (2,71 à 3,13)	23,1 (21,3 à 25,0)
Espagne	3,71 (3,63 à 3,79)	25,2 (24,5 à 25,9)

Une autre enquête a été réalisée montrant que l'incidence annuelle en Espagne (31/1000 chiens/an) est plus élevée qu'en France (6/1000 chiens/an). Les taux de leishmaniose canine les plus élevés sont situés dans le sud-est et le sud-ouest de l'Espagne ainsi que dans les îles Baléares. En revanche, l'incidence est faible en France sauf dans le sud-est où elle peut aller jusqu'à 20 cas pour 1000 chiens par an (**Carte 2**).

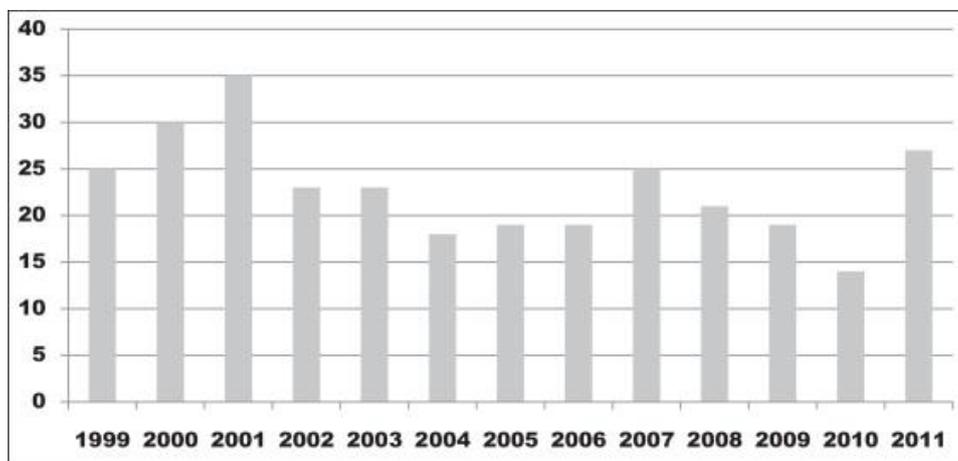


Carte 2 : Interpolation de l'incidence des cas de leishmaniose canine pour 1000 chiens par an. Les couleurs correspondent aux taux d'incidence estimés. Les points colorés indiquent la localisation des vétérinaires ayant répondu à l'enquête (Le Rutte et al. 2021)

3.3 Répartition en France

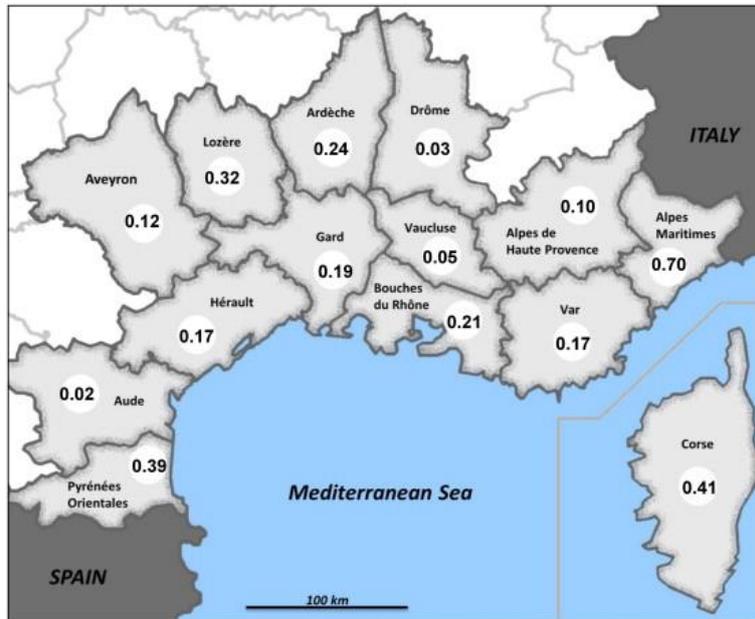
En France, les cas de leishmaniose canine sont principalement rapportés dans les Pyrénées-Orientales, les Cévennes, la Provence, la Côte d'Azur et la Corse. Mais des foyers ectopiques ont été rencontrés de manière occasionnelle là où le microclimat présente une végétation méditerranéenne, comme dans la Moyenne vallée de l'Ariège (Dedet et al. 2013).

Les cas humains de leishmaniose, autochtones ou importés, sont recensés par le Centre National de Référence des Leishmanioses (CNRL) situé à Montpellier depuis 1999 grâce à des déclarations des structures sanitaires prenant en charge les patients ou diagnostiquant les cas. Entre 1999 et 2011, 1362 déclarations de cas de leishmaniose ont été adressées au CNRL avec 21,8% de cas autochtones et 78,3% de cas importés (**Graphique 1**).



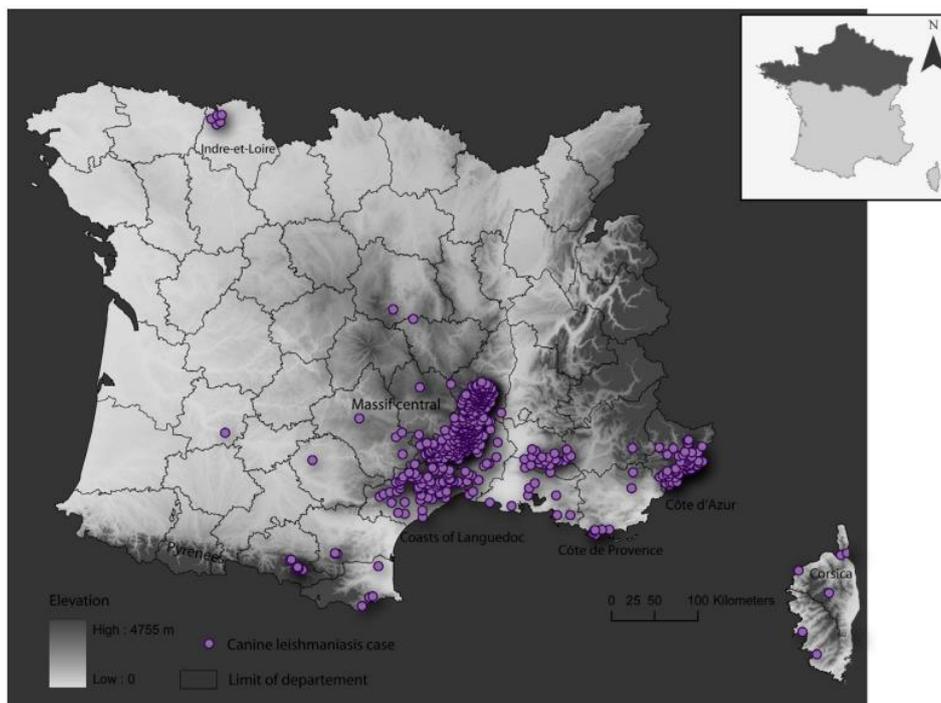
Graphique 1 : Évolution du nombre annuel de déclarations de cas de leishmanioses autochtones faites au CNRL entre 1999 et 2011 (Dedet et al. 2013)

A partir de ces déclarations au CNRL, une carte indiquant l'incidence annuelle moyenne pour 100 000 habitants et par département a été réalisée (**Carte 3**).



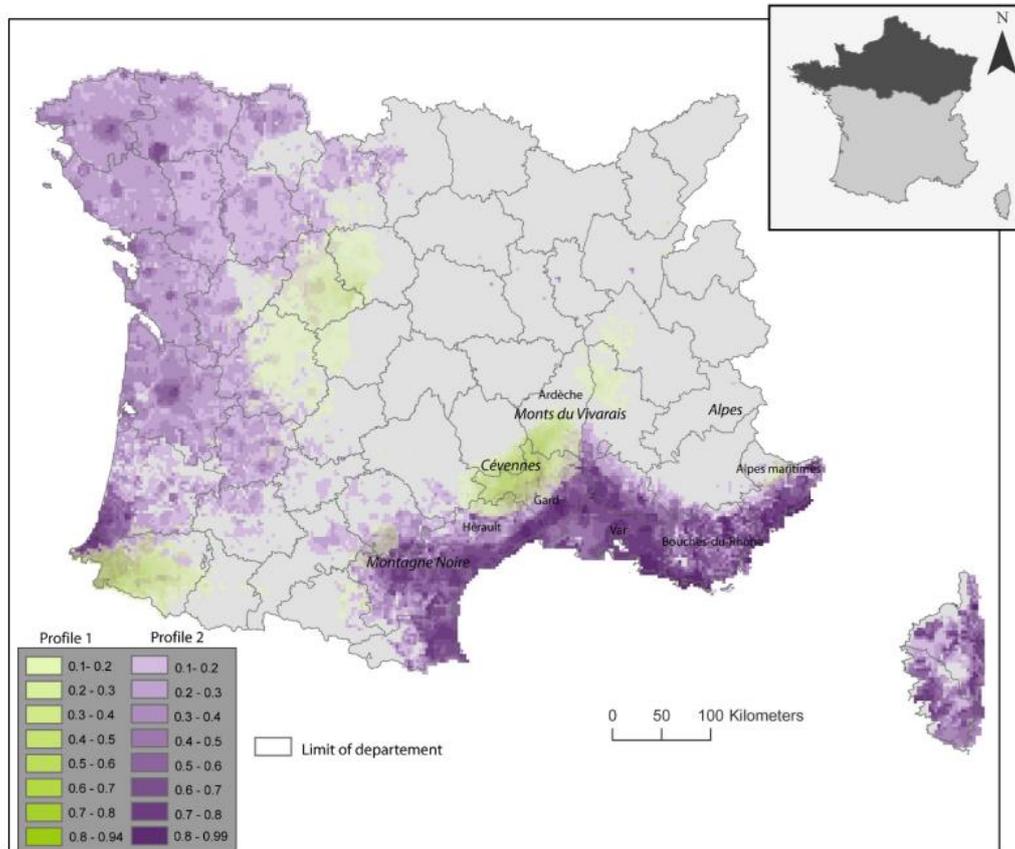
Carte 3 : Incidences annuelles moyennes pour 100 000 habitants et par département de cas de leishmanioses rapportés au CNRL entre 1999 et 2011 (Dedet et al. 2013)

Concernant la leishmaniose canine, la séroprévalence dans la région méditerranéenne française varie entre 2 et 40% (Paltrinieri et al. 2010). La distribution des cas de leishmaniose canine autochtone entre 1965 et 2007 montre que le versant méditerranéen des Cévennes et des Alpes ainsi que la Côte d’Azur sont les principales zones enzootiques (**Carte 4**).



Carte 4 : Géolocalisation des cas de leishmaniose détectés entre 1965 et 2007 (Chamaillé et al. 2010)

L'aire de répartition de *P. perniciosus* comprend principalement tout le pourtour méditerranéen alors que celle de *P. ariasi* est plus restreinte. *P. ariasi* est présent à des altitudes plus élevées. Le risque d'infection chez les chiens, compris entre 0 et 1, dépend de cette répartition (**Carte 5**).



Carte 5 : Risque d'infection par *Leishmania infantum* chez les chiens par les phlébotomes *Phlebotomus ariasi* (en vert) et *Phlebotomus perniciosus* (en violet) dans le Sud de la France. Le risque est exprimé comme une probabilité d'occurrence entre 0 et 1 (Chamaillé et al. 2010)

III. Physiopathologie de la leishmaniose

Lorsque les leishmanies pénètrent dans le derme, elles sont phagocytées par un macrophage et une réponse immunitaire mixte, cellulaire et humorale, est déclenchée. Cependant, *L. infantum* module la réponse immunitaire de l'hôte en l'orientant vers une réponse essentiellement à médiation humorale de type Th2, non protectrice, au détriment d'une réponse à médiation cellulaire cytotoxique de type Th1

(Beugnet et al. 2021). En effet, les taux d'immunoglobulines spécifiques de *Leishmania* sont supérieurs chez les chiens symptomatiques à ceux détectés chez les chiens infectés asymptomatiques. Il existe par ailleurs une corrélation entre le taux d'IgG, les signes cliniques et la densité parasitaire tissulaire (Baneth et al. 2008). Les leishmanies possèdent également un mécanisme d'échappement à la reconnaissance des antigènes par le système immunitaire car leurs antigènes de surface varient entre les promastigotes et les amastigotes (Beugnet et al. 2021).

La réponse à médiation cellulaire de type Th1 repose sur des phénomènes de cytotoxicité grâce aux cytokines sécrétées par les lymphocytes T CD4+, telles que l'interféron γ (IFN- γ), l'interleukine 2 (IL-2) et le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α), qui induisent une réaction oxydative intense au sein des macrophages. Ceux-ci produisent alors de l'oxyde nitrique (NO) détruisant les amastigotes de *Leishmania* intracellulaires par apoptose. Cette réponse est la seule permettant de contrôler l'infection mais est insuffisante pour éradiquer le parasite (Baneth et al. 2008; Solano-Gallego et al. 2009; Beugnet et al. 2021).

La réponse à médiation humorale de type Th2 est précoce et intense. Des anticorps, principalement des IgG, sont produits par les lymphocytes B pour permettre la phagocytose par les macrophages. Cette réponse ne joue donc pas un rôle protecteur du fait de la persistance des leishmanies dans les vacuoles parasitophores des macrophages. De plus, la production excessive de ces anticorps aboutit à la formation de complexes immuns avec des antigènes et donc à des signes cliniques immuno-pathologiques tels que des arthrites ou des glomérulonéphrites. Les cytokines impliquées dans cette dissémination parasitaire sont l'interleukine 10 (IL-10), le facteur de croissance tissulaire β (TGF- β) et l'interleukine 4 (IL-4). L'IL-10 produite par les lymphocytes T régulateurs favorise la prolifération des leishmanies et l'expression clinique de la maladie en exerçant un rétrocontrôle négatif sur la réponse immunitaire à médiation cellulaire (Baneth et al. 2008; Beugnet et al. 2021).

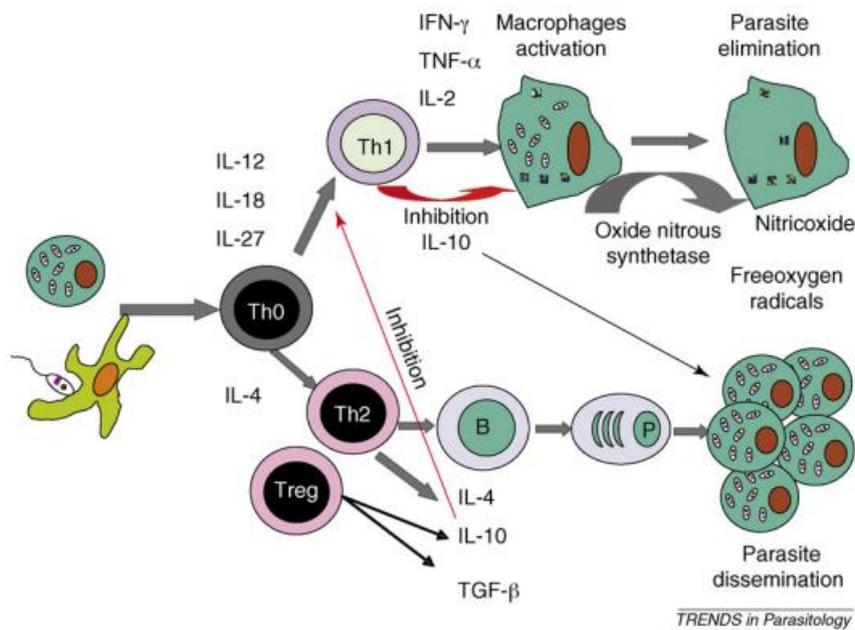


Figure 5 : Illustration des deux types de réponses immunitaires possibles après infection par *Leishmania infantum* chez les chiens (Baneth et al. 2008)

L'infection subclinique n'est pas permanente car une immunodépression ou des maladies concomitantes peuvent rompre l'équilibre et entraîner une progression de la maladie clinique chez les chiens, comme cela a été observé chez les humains co-infectés par le virus de l'immunodéficience (VIH) (Solano-Gallego et al. 2009).

IV. La leishmaniose canine

1 - Facteurs de risque

1.1 La race

Toutes les races canines peuvent être affectées par la leishmaniose. Cependant, certaines races comme le Boxer, le Cocker Spaniel, le Rottweiler et le Berger Allemand semblent plus sensibles au développement de la maladie. Tandis que d'autres provenant de zone endémique, comme le Podenco d'Ibiza, développent rarement des signes cliniques (Miranda et al. 2008; Paltrinieri et al. 2010; Solano-Gallego et al. 2011). Les chiens de races présentent un risque plus élevé d'être séropositif que les chiens issus de croisement. Certaines races présentant une

séropositivité plus fréquente sont l'Épagneul Breton, l'Husky Sibérien, le Labrador Retriever, le Boxer et le Berger Allemand (Cortes et al. 2012).

Le type de pelage, associé à la race, est également un facteur de risque. En effet, un poil court ou moyen est un facteur d'exposition à *L. infantum* par rapport aux chiens ayant un poil long. Étant donné que les phlébotomes se nourrissent sur des zones glabres, cette caractéristique peut faciliter les piqûres. De plus, les poils longs seraient moins attrayants pour les vecteurs car ils joueraient un rôle dans la réduction d'émission de CO₂ et d'irradiation thermique (Cortes et al. 2012; Rombolà et al. 2021).

La taille est également un facteur de protection pour les chiens de plus de 25 kilogrammes. Cependant, ce résultat pourrait être expliqué par l'espérance de vie des chiens de grande taille qui est plus courte que celle des chiens de petite taille (Rombolà et al. 2021).

1.2 Le sexe

En ce qui concerne le sexe des chiens, certains auteurs ne trouvent aucune différence significative de prévalence entre les mâles et les femelles (Cortes et al. 2012), alors que d'autres trouvent une prévalence plus élevée chez les mâles (Miranda et al. 2008; Paltrinieri et al. 2010; Rombolà et al. 2021). Le comportement des mâles, plus itinérants, est une supposition expliquant ce résultat (Rombolà et al. 2021).

1.3 L'âge

La répartition de l'âge est bimodale selon certains auteurs, avec un pic de prévalence de la maladie apparaissant chez les jeunes chiens, ayant moins de 3 ans ou entre 2 et 4 ans, puis un deuxième pic apparaissant chez les chiens plus âgés, ayant plus de 7 à 8 ans ou entre 8 et 10 ans (Miranda et al. 2008; Paltrinieri et al. 2010; Solano-Gallego et al. 2011). Alors que d'autres auteurs décrivent une séropositivité plus importante entre 5 et 8 ans ou après 7 ans, avec un risque augmentant avec l'âge qui est considérable à partir de 2 ans (Cortes et al. 2012; Rombolà et al. 2021). Ce risque de séropositivité rencontré chez les animaux plus âgés peut être attribué à la répétition de l'exposition aux phlébotomes et donc à *L. infantum* au cours des années.

Comme il a été démontré que les chiens plus sensibles, comme les Boxers, développent la maladie à un âge plus précoce, les résultats de la répartition des âges des chiens selon les études dépendent de la composition initiale de la population étudiée (Miranda et al. 2008; Rombolà et al. 2021).

1.4 Mode de vie

Les chiens vivant principalement ou exclusivement en extérieur ont un risque plus élevé d'être atteint de leishmaniose (Cortes et al. 2012).

Les chiens de chasses sont également plus à risque d'être séropositifs que les animaux de compagnie. En effet, l'activité de chasse implique un séjour prolongé à l'extérieur avec une exposition accrue aux vecteurs et les chasseurs utilisent souvent moins d'insecticides topiques répulsifs que les propriétaires d'animaux de compagnie (Rombolà et al. 2021).

Le dernier facteur de risque d'exposition pour les chiens est la vie en collectivité (Rombolà et al. 2021).

1.5 Mesures prophylactiques

Concernant l'utilisation de mesures prophylactiques ayant un effet répulsif sur les vecteurs, Cortes et al. (2012) montrent que les chiens ne recevant pas d'insecticides ont un risque d'infection 1,5 fois plus élevé que ceux qui en reçoivent. Dans cette étude, les insecticides considérés comme efficaces pour la protection contre l'infection à *L. infantum* sont des topiques à action prolongée ayant une AMM pour les phlébotomes comme Advantix[®], Scalibor[®], Pulvex[®].

2 - Signes cliniques de la leishmaniose canine

La leishmaniose canine est une maladie complexe qui peut infecter jusqu'à 63 à 80% des chiens en zone d'endémie, mais généralement la majorité d'entre eux reste asymptomatique (Baneth et al. 2008). En effet, la maladie peut être subclinique,

spontanément résolutive ou grave, et parfois mortelle. Cependant, l'infection subclinique peut évoluer en maladie clinique si le chien présente une immunodépression ou des maladies concomitantes (Solano-Gallego et al. 2011). Le tableau clinique est protéiforme en raison des différents organes touchés et de la diversité des réponses immunitaires. En effet, la maladie peut impliquer n'importe quel organe, tissu ou liquide biologique. Les signes cliniques les plus courants sont la polyadénomégalie généralisée et les lésions cutanées. Néanmoins, lors de l'examen clinique, de nombreux signes cliniques et lésions peuvent être détectés (**Tableau 3**), dont certains, comme l'hépatomégalie ou la splénomégalie, peuvent être mis en évidence avec certitude par imagerie (Solano-Gallego et al. 2009; Paltrinieri et al. 2010).

Tableau 3 : Signes cliniques et lésions pouvant être détecté lors de l'examen clinique de chiens atteints de leishmaniose (Paltrinieri et al. 2010)

Localisation corporelle	Anomalies à l'examen clinique
Général	Amaigrissement ou cachexie Amyotrophie musculaire Léthargie Muqueuses pâles Poly-adénomégalie périphérique légère à modérée Epistaxis Hépatosplénomégalie Boiterie et gonflement des articulations
Cutanée et cutanéomuqueuse	Dermatite exfoliative (localisée ou généralisée) Dermatite ulcérate d'apparence et de distribution variable (jonctions cutanéomuqueuses, peau recouvrant les extrémités et les sites traumatisés) Dermatite papuleuse Dermatite nodulaire Lésions nasales de type lupus ou pemphigus Onychopathie Hyperkératose naso-digitale Dermatite pustuleuse
Oculaire	Lésions palpébrales Lésions conjonctivales, diffuses ou nodulaires Lésions cornéennes, principalement associées à la conjonctive (kérato-conjonctivite) Kératite nodulaire et kérato-conjonctivite sèche Lésions sclérales (sclérites et épisclérites diffuses ou nodulaires) Lésions de l'uvée antérieure diffuses ou granulomateuses et lésions de l'uvée postérieure

	(choriorétinites, hémorragies et décollements de la rétine) Complications possibles des lésions de l'uvée (glaucome et panophtalmie) Lésions orbitaires granulomateuses ou myosite des muscles extrinsèques
Autres	Atteintes gastro-intestinales ou neurologiques

D'après Baneth et al. (2008), la majorité des chiens présentent un mauvais état corporel, une atrophie musculaire généralisée, une lymphadénomégalie et un squamosis excessif (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Principaux signes cliniques retrouvés chez les chiens atteints de leishmaniose (Baneth et al. 2008)

Anomalies à l'examen clinique	Pourcentage de chiens symptomatiques
Atteinte cutanée	81% - 89%
Poly-adénomégalie	62% - 90%
Atteinte oculaire	16% - 81%
Muqueuses pâles	58%
Splénomégalie	10% - 53%
Cachexie	10% - 48%
Hyperthermie	4% - 36%
Epistaxis	6% - 10%
Onychogryphose	20% - 31%

Une étude a révélé que l'élévation de la charge parasitaire est positivement corrélée avec la gravité des signes cliniques couramment observés chez les chiens atteints de leishmaniose, comme les lésions cutanées, les altérations ophtalmologiques, l'onychogryphose, la lymphadénomégalie poplitée et la faible masse corporelle (Torrecilha et al. 2016).

2.1 Signes cliniques généraux

Les signes cliniques généraux présents à l'examen clinique d'un chien atteint de leishmaniose sont variables et non spécifiques. Ils comprennent une poly-adénomégalie périphérique généralisée, une perte de poids progressive, une atrophie musculaire, une intolérance à l'exercice, une diminution de l'appétit, une léthargie, une

splénomégalie, une polyurie et une polydipsie, une épistaxis, une boiterie, des vomissements et de la diarrhée (Solano-Gallego et al. 2009).

La lymphadénomégalie généralisée est expliquée d'une part par la réponse du système immunitaire, caractérisée par l'augmentation du nombre et de la taille des follicules lymphoïdes avec une prolifération des lymphocytes et des cellules réticulo-endothéliales. D'autre part, elle est due à une hypertrophie et à une hyperplasie marquée des macrophages, des cordons et des sinus médullaires. En outre, l'état clinique ou la charge parasitaire tissulaire dans les nœuds lymphatiques hyperplasiés ne sont pas corrélés avec le type et l'intensité des lésions dans d'autres organes (Lima et al. 2004).

L'atrophie musculaire progressive est associée à une polymyosite chronique, caractérisée par la présence d'infiltrats mononucléaires, de vascularite neutrophile, de complexes immuns dans les tissus musculaires et d'amastigotes de *L. infantum* dans les macrophages et les myofibrilles (Vamvakidis et al. 2000; Baneth et al. 2008).

La splénomégalie est due à une prolifération et/ou à une infiltration des cellules immunitaires, à une hyperplasie associée de la pulpe blanche et rouge ainsi qu'à une modification microvasculaire marquée par un développement abondant des veinules et veines pulpeuses et une augmentation des fibres réticulaires (Alexandre-Pires et al. 2006; Baneth et al. 2008; Koutinas, Koutinas 2014).

L'épistaxis, l'hématurie et la diarrhée hémorragique sont associées à une ulcération tissulaire et à des troubles hémostatiques concernant l'hémostase primaire et secondaire (Ciaramella et al. 2005). L'épistaxis, pouvant être aiguë ou chronique, unilatérale ou bilatérale, due à une thrombocytopénie, à une augmentation de la viscosité sanguine secondaire à une hyperglobulinémie et à une ulcération de la muqueuse nasale, peut constituer une menace pour la vie de l'animal lors d'hémorragies incontrôlables (Petanides et al. 2008; Koutinas, Koutinas 2014).



Figure 6 : État cachectique avec dermatite exfoliative généralisée et ulcérations sur plusieurs protubérances osseuses (Koutinas, Koutinas 2014)



Figure 7 : Atrophie sévère et symétrique des muscles temporaux due à une myosite musculaire masticatoire chronique (Koutinas, Koutinas 2014)



Figure 8 : Amyotrophie et alopecie chez un chien leishmanien (Beugnet et al. 2021)



Figure 9 : Epistaxis (Solano-Gallego et al. 2011)



Figure 10 : Dermatite exfoliative sur le membre pelvien gauche et adénomégalie du nœud lymphatique poplité gauche (Solano-Gallego et al. 2011)

2.2 Signes cutanéomuqueux

Les lésions cutanées sont les manifestations cliniques les plus fréquentes de la leishmaniose (Baneth et al. 2008; Solano-Gallego et al. 2009). Les principaux types de dermatites retrouvés sont :

- Une dermatite exfoliative non prurigineuse, avec ou sans alopecie, généralisée ou localisée sur la face, les oreilles et les membres ;
- Une dermatite ulcéreuse sur les proéminences osseuses, les jonctions cutanéomuqueuses, les membres et les oreilles ;
- Une dermatite nodulaire focale ou multifocale ;
- Une dermatite proliférative ;
- Une dermatite papuleuse.

Une onychogryphose, correspondant à l'hypertrophie de l'épaisseur des griffes, due à la pousse accélérée de celles-ci, est également souvent retrouvée chez les chiens atteints de leishmaniose. D'autres lésions atypiques sont retrouvées plus rarement, comme une dermatite pustuleuse, une dépigmentation nasale, une panniculite, une hyperkératose digitale et/ou nasale, une *alopecia areata*, un pemphigus foliacé et un érythème polymorphe. Par ailleurs, une complication courante est la pyodermite bactérienne staphylococcique, superficielle ou profonde (Solano-Gallego et al. 2009; 2011). D'autres complications telles que la dermatophytose, la dermatite à *Malassezia* et la démodécie peuvent survenir (Koutinas, Koutinas 2014).

Le tableau histopathologique typique des lésions cutanées est une réaction inflammatoire péri-annexielle, granulomateuse ou pyogranulomateuse diffuse

associée à une hyperkératose ortho-kératosique à para-kératosique de l'épiderme, une acanthose, des croûtes, une ulcération et à la présence d'amastigotes de *L. infantum* dans les macrophages. Cependant, d'autres lésions histologiques comme la dermatite pustuleuse sous-cornéenne, la dermatite lichénoïde, la vascularite et la panniculite ont également été décrits (Baneth et al. 2008; Solano-Gallego et al. 2009).

L'histopathologie de l'onychogryphose révèle une dermatite mononucléaire légère à sévère et une dermatite mononucléaire d'interface, avec absence réelle de parasites. L'onychogryphose et l'hyperkératose naso-digitale sont considérées comme des affections exfoliatives localisées, par accumulation excessive de *stratum corneum* (Koutinas, Koutinas 2014).



Figure 11 : Squamosis important sur la tête et le pavillon de l'oreille avec squames épaisses et brillantes (Beugnet et al. 2021)



Figure 12 : Ulcères sur la truffe d'un chien (Beugnet et al. 2021)



Figure 13 : Dermatite exfoliative multifocale (Baneth et al. 2008)



Figure 14 : Onychogryphose (Baneth et al. 2008)

2.3 Signes oculaires

D'après Baneth et al. (2008), la prévalence relative des lésions oculaires et périoculaires chez les chiens atteints de leishmaniose varie de 16 % à 81 %. Parmi les chiens présentant des signes oculaires dans l'étude de Pena et al. (2000), 15% n'ont pas d'autres signes cliniques apparents. L'uvéite antérieure est la manifestation oculaire la plus fréquente (42,8% des chiens présentant des lésions oculaires). Les autres lésions courantes sont la blépharite exfoliative, ulcéreuse ou nodulaire, la conjonctivite et la kérato-conjonctivite, parfois sèche.

Les lésions oculaires histopathologiques sont des réactions inflammatoires lymphoplasmocytaires à granulomateuses en région périvasculaire, nodulaires ou diffuses, associées à la présence de *L. infantum* dans 56,2% des cas dans les tissus oculaires, en particulier dans la conjonctive, le limbe et les corps ciliaires (Solano-Gallego et al. 2009).

Les conséquences oculaires de l'hypertension systémiques comme un décollement de la rétine, une hémorragie de la rétine ou un glaucome sont rares. En effet, dans l'étude de Cortadellas et al. (2006), des lésions oculaires n'ont été observées que chez 5,7% des chiens hypertendus atteints de leishmaniose clinique.



Figure 15 : Blépharite nodulaire et ulcéreuse, conjonctivite purulente et uvéite antérieure avec opacité cornéenne et néovascularisation (Koutinas, Koutinas 2014)



Figure 16 : Uvéite antérieure aiguë avec un œdème cornéen secondaire (Pena, Roura, Davidson 2000)

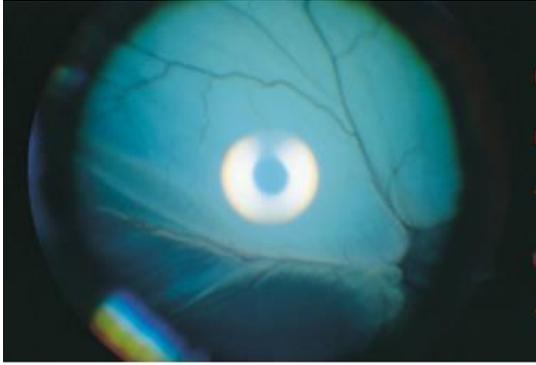


Figure 17 : Décollement rétinien complet de l'œil gauche (Pena, Roura, Davidson 2000)



Figure 18 : Blépharite diffuse (Pena, Roura, Davidson 2000)



Figure 19 : Deux nodules cutanés sur la région du canthus médial, représentant les sites de pique par les phlébotomes (Pena, Roura, Davidson 2000)



Figure 20 : Conjonctivite avec épaissement proéminent de la conjonctive bulbaire ventrale (Pena, Roura, Davidson 2000)

2.4 Atteinte rénale

La prévalence de l'insuffisance rénale chronique est élevée chez les chiens atteints d'une leishmaniose clinique (Costa et al. 2003). L'atteinte rénale peut constituer la seule manifestation clinique de la maladie mais il s'agit également d'une conséquence grave de l'évolution de celle-ci, dans la mesure où elle est la principale cause de mortalité. En effet, les chiens malades peuvent seulement présenter une protéinurie légère, qui peut évoluer jusqu'à un syndrome néphrotique ou à une insuffisance rénale terminale. Il est donc essentiel d'évaluer la maladie rénale chez les chiens malades à l'aide des recommandations de l'International Renal Interest Society (IRIS). Cependant, l'azotémie, caractérisée par une augmentation de la créatininémie au-delà de 1,4 mg/dL et de l'urémie, retrouvée typiquement lors d'insuffisance rénale

chronique, est rare et se produit tard au cours de la progression de la maladie, lorsque la majorité des néphrons deviennent dysfonctionnels (Baneth et al. 2008; Solano-Gallego et al. 2009).

Les principales lésions histopathologiques retrouvées sont la glomérulonéphrite et la néphrite interstitielle, alors que l'amyloïdose rénale est rare. En effet, la glomérulonéphrite a été observée chez 100% des chiens dans plusieurs études (Costa et al. 2003; Zatelli et al. 2003). Elle est associée au dépôt glomérulaire de complexes immuns et plus fréquemment membranoproliférative ou mésangioproliférative (Plevraki et al. 2006).

2.5 Troubles ostéoarticulaires

Les lésions ostéoarticulaires sont fréquentes chez les chiens atteints de leishmaniose et se manifestent principalement par une polyarthrite érosive ou non érosive. Dans l'étude de Agut et al. (2003), les chiens malades ayant des lésions osseuses et articulaires présentent des boiteries, des douleurs et crépitations articulaires, un gonflement des tissus mous et/ou une amyotrophie musculaire. Les arthrites sont associées dans la plupart des cas à des lésions ostéolytiques. Cependant, des amastigotes de *L. infantum* peuvent également être identifiés dans le liquide synovial des articulations n'ayant pas d'anomalies radiographiques osseuses.

Les os affectés présentent généralement des lésions prolifératives périostées et intramédullaires avec ostéolyse corticale et médullaire fréquente (Agut et al. 2003; Baneth et al. 2008).

2.6 Troubles digestifs

Les troubles digestifs sont rarement constatés chez les chiens leishmaniens et sont principalement des formes subcliniques d'hépatite chronique ou de colite chronique. Les lésions histopathologiques hépatiques montrent une inflammation granulomateuse chronique, diffuse ou localisée sur les sinusoides, la zone porte ou la capsule. Des parasites peuvent également être observés dans les cellules de Kupffer et les hépatocytes. L'hépatomégalie est le résultat d'un infiltrat inflammatoire, d'une

hypertrophie et d'une hyperplasie cellulaire et éventuellement d'une congestion passive (Koutinas, Koutinas 2014). En ce qui concerne la colite chronique, la charge parasitaire est plus élevée dans le cæcum et le côlon que dans les autres segments du tractus gastro-intestinal (Pinto et al. 2011).

2.7 Autres manifestations cliniques

Les autres manifestations cliniques sont moins fréquentes. Elles comprennent les lésions des muqueuses de la cavité buccale, de la langue et des organes génitaux, les maladies neurologiques dues à des méningites, les maladies auto-immunes et les troubles cardiovasculaires (Solano-Gallego et al. 2009).

Les maladies cardiopulmonaires associées à la leishmaniose décrites sont des myocardites non suppurées, des péricardites fibrineuses et des pneumonies, bien que le lien entre ces atteintes et le parasite ne soit pas prouvé (Solano-Gallego et al. 2009; Koutinas, Koutinas 2014).

La leishmaniose est également à l'origine de troubles vasculaires décrits dans l'étude de Solano-Gallego et al. (2009), comprenant des cas de vascularite systémique, de thrombo-embolie et de syndrome d'hyperviscosité sanguine.

Des signes neurologiques associés à la leishmaniose ont été décrits, comme des convulsions, une cervicalgie, une paraplégie. La pathologie sous-jacente de la méningo-encéphalomyélite observée est compatible avec une méningite granulomateuse et/ou neutrophilique, des granulomes du système nerveux central, des hémorragies spinales, une vascularite ou des accidents vasculaires cérébraux (Koutinas, Koutinas 2014).

Enfin, des pathologies génitales du chien mâle ont été décrites dans certains cas, sous forme d'orchite, d'épididymite, de prostatite chronique, d'inflammation granulomateuse pénienne et de balanoposthite. Aucune publication n'a cependant décrit de tropisme génital de *L. infantum* chez la chienne (Koutinas, Koutinas 2014).

3 - Signes biologiques de la leishmaniose canine

Chez un chien suspecté d'être atteint de leishmaniose, les tests de laboratoire devraient comprendre une formule sanguine, une analyse biochimique, une électrophorèse des protéines sériques et une analyse d'urine, permettant de détecter une ou plusieurs anomalies associées à la maladie (Paltrinieri et al. 2010).

Dans l'étude de Torrecilha et al. (2016), l'augmentation de la charge parasitaire a été associée à une intensification de l'anémie non régénérative, de la neutrophilie, de l'éosinopénie, des lésions hépatiques et du déséquilibre oxydatif. L'intensité de l'infection parasitaire peut alors être prédite par les résultats des examens clinique et de laboratoire.

3.1 Modifications hématologiques et hémostatiques

Les modifications hématologiques chez les chiens atteints de leishmaniose canine ne sont pas spécifiques. Une anémie non régénérative normocytaire normochrome ou hypochrome, légère à modérée, est l'anomalie la plus courante (Solano-Gallego et al. 2009; Paltrinieri et al. 2016; Torrecilha et al. 2016). Dans l'étude de Ciaramella et al. (1997), 60% des chiens atteints de leishmaniose présentent cette modification. Elle résulte principalement d'une diminution de l'érythropoïèse causée par une maladie rénale chronique présente chez la majorité des chiens symptomatiques. Elle peut être aggravée par une perte sanguine, une hémolyse secondaire à une destruction à médiation immune des globules rouges, une aplasie ou une hypoplasie de la moelle osseuse et la diminution de la fluidité membranaire des érythrocytes (Ciaramella et al. 1997; Baneth et al. 2008; Ribeiro et al. 2013; Paltrinieri et al. 2016). Une association significative entre l'anémie et la présence des symptômes chez les chiens malades a été démontrée par Ribeiro et al. (2013).

Des anomalies du leucogramme sont également présentes chez une grande partie des animaux malades, en particulier lorsque des dermatites ulcéreuses et des infections bactériennes secondaires sont révélées. La réponse inflammatoire systémique entraîne une leucocytose avec neutrophilie et monocytose, mais des cas de lymphopénie, lymphocytose, éosinophilie, éosinopénie, monocytopénie sont également parfois décrits (Paltrinieri et al. 2010; 2016; Torrecilha et al. 2016).

Une thrombocytopénie légère à modérée est assez fréquente chez les chiens atteints de leishmaniose clinique sans infection concomitante. Les cas de thrombocytopénies marquées peuvent être rencontrés en cas de co-infections par d'autres agents pathogènes à transmission vectorielles, comme *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* ou *Anaplasma platys*, ou de présence d'autres causes conduisant à une réduction de la concentration plaquettaire (Paltrinieri et al. 2016). Elle a été observée dans 29% des cas de l'étude de Ciaramella et al. (1997). Une association entre la thrombocytopénie et la présence d'anticorps contre la membrane plaquettaire a été démontrée chez des chiens infectés et suppose que le mécanisme responsable de la thrombocytopénie est une destruction à médiation immune des plaquettes circulantes (Terrazzano et al. 2006; Cortese et al. 2009). Mais elle peut également être secondaire à une aplasie ou hypoplasie de la moelle osseuse (Paltrinieri et al. 2016).

Les anomalies hémostatiques sont rencontrées plus rarement. Le temps de céphaline activé (aPTT) et le temps de prothrombine (PT) peuvent être prolongés et une hyper-fibrinogénémie peut être présente (Paltrinieri et al. 2010). Ces variations résultent probablement d'une hyperglobulinémie, qui est une anomalie fréquente chez les chiens atteints de leishmaniose.

L'hypercoagulabilité, quant à elle, est fréquente chez les chiens affectés par une néphropathie sévère car elle est secondaire à une perte glomérulaire d'antithrombine III, un inhibiteur d'une protéase impliquée dans la régulation de la coagulation sanguine empêchant la conversion du fibrinogène en fibrine. Le risque de thromboembolie est alors accru (Lennon et al. 2013). L'hypercoagulabilité est également due à l'hyperviscosité résultant de l'hyperglobulinémie (Paltrinieri et al. 2016).

3.2 Modifications biochimiques

Les principales modifications biochimiques proviennent de l'atteinte rénale, des réponses inflammatoires et immunitaires. Les biomarqueurs de la fonction hépatobiliaires et pancréatique peuvent également être modifiés en cas d'infiltrats pyogranulomateux de ces organes. Les activités des enzymes musculaires (CK et LDH), de l'isoenzyme cérébrale (CK) et de l'isoenzyme myocardique (CK) peuvent être augmentée en présence d'amyotrophie musculaire, de signes neurologiques

secondaire à des altérations cérébro-vasculaires ou de cardiomyopathie respectivement. Dans le cas de cardiomyopathie, une augmentation de la troponine I est décrite (Silvestrini et al. 2012; Paltrinieri et al. 2016).

En ce qui concerne l'atteinte rénale, une néphropathie protéinurique est fréquente, étant secondaire à un dépôt de complexes immuns au niveau des glomérules. Les chiens infectés présentent donc une insuffisance rénale chronique dont le stade avancé de celle-ci est caractérisé par une azotémie et peut être associée à une hypertension systémique (Ribeiro et al. 2013; Koutinas, Koutinas 2014; Braga et al. 2015). Par conséquent, l'approche clinique et de laboratoire recommandée par l'International Renal Interest Society (IRIS) est la même que pour tout type d'insuffisance rénale chronique. Les marqueurs de la fonction rénale, incluant la créatininémie, la diméthylarginine symétrique (SDMA) et la densité urinaire, ainsi que la pression artérielle et la protéinurie doivent être quantifiés (Paltrinieri et al. 2016).

Cependant, la créatinémie est un marqueur peu sensible car sa valeur n'augmente au-dessus de l'intervalle de référence que lorsque 75% des néphrons ne sont plus fonctionnels. La mesure directe du débit de filtration glomérulaire (DGF), quantifiant la filtration et l'excrétion rénale, est la méthode idéale pour diagnostiquer les premiers stades de l'insuffisance rénale chronique mais est sous-utilisée en médecine vétérinaire (Von Hendy-Willson, Pressler 2011). La concentration sérique de cystatine C (Cys-C), une protéine filtrée par les glomérules, réabsorbée et catabolisée dans les tubules rénaux proximaux, est également un marqueur de la fonction rénale. L'étude de Pasa et al. (2009) a démontré que la moyenne de Cys-C chez les chiens infectés est significativement plus élevée, alors que la créatininémie était dans l'intervalle de référence. La SDMA, une petite molécule formée par méthylation de l'arginine et libérée dans le sang lors de la dégradation des protéines, est principalement éliminée par excrétion rénale. Ce biomarqueur permet une identification précoce, en détectant une diminution de 20% du DGF, ainsi que la surveillance de l'évolution de la fonction rénale chez les chiens atteints d'insuffisance rénale chronique. Le seuil de la concentration de SDMA au-delà duquel une atteinte rénale peut être considérée est de 14 $\mu\text{g/dL}$ (Nabity et al. 2015). La concentration sérique de SDMA est significativement plus élevée chez les chiens infectés azotémiques que chez les chiens infectés non azotémiques. Elle est également corrélée à la présence et à la gravité de la protéinurie, à la diminution de la densité urinaire et aux stades cliniques avancés (Giapitzoglou et al. 2020).

Les anomalies biochimiques secondaires aux réponses inflammatoires et immunitaires retrouvées chez les chiens atteints de leishmaniose sont une hyperprotéïnémie, une hypoalbuminémie, une hyperglobulinémie polyclonale bêta et gamma, modérée à sévère, et un rapport albumine/globuline faible. Concernant la fonction hépato-biliaire, les activités enzymatique hépatiques des ALAT (alanine aminotransférase), des PAL (phosphatases alcalines) et des GGT (gamma glutamyl transférase) peuvent être augmentées modérément (Ciaramella et al. 1997; Solano-Gallego et al. 2009; Ribeiro et al. 2013; Torrecilha et al. 2016).

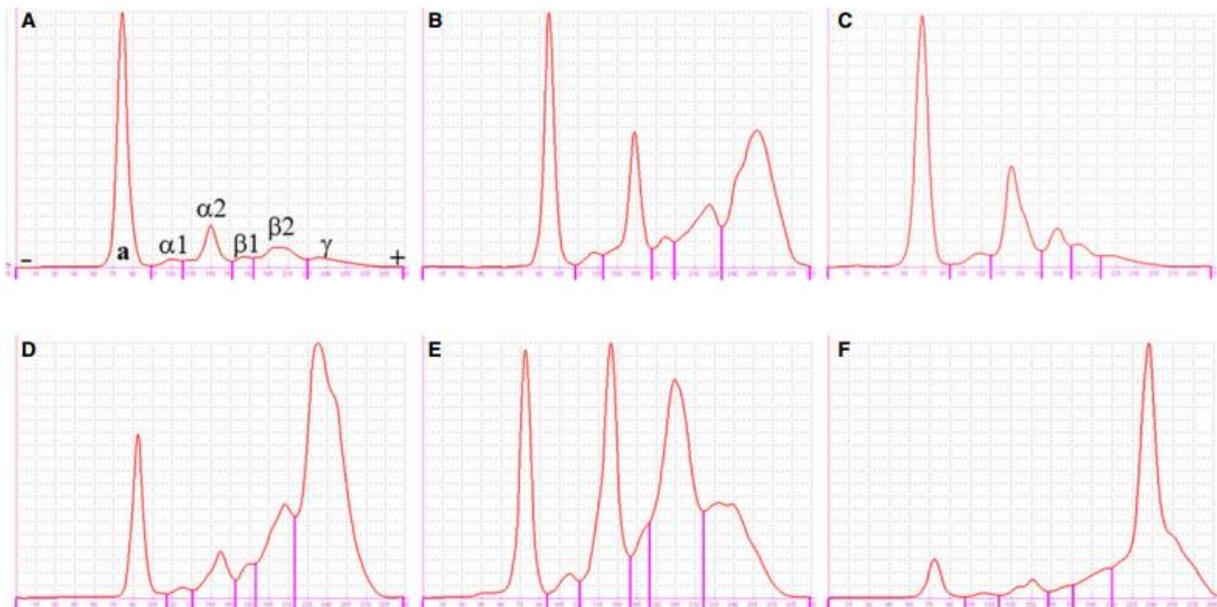


Figure 21 : Electrophorèse des protéines sériques chez un chien sain (A) et chez des chiens présentant une leishmaniose clinique (B-F) (Paltrinieri et al. 2016)

3.3 Modifications de l'analyse d'urine

Les modifications de l'analyse d'urine reflètent également l'atteinte rénale. En effet, les lésions tubulo-interstitielles causent une baisse de la capacité à concentrer les urines et donc une baisse de la densité urinaire. Une protéinurie et/ou une glucosurie peuvent être mis en évidence grâce à une bandelette urinaire. Cependant, une surestimation de la protéinurie peut se produire sur une urine alcaline, avec un pH supérieur à 8 (Paltrinieri et al. 2016). Si le résultat de la bandelette pour la protéinurie est négatif, le chien n'est probablement pas protéinurique. En revanche, si la

bandelette présente 1+ avec une densité urinaire inférieure à 1,012 ou si elle présente 2+ et plus, le chien est probablement protéinurique et la protéinurie doit être évaluée à l'aide du rapport protéine urinaire sur créatinine urinaire (RCPU) (Zatelli et al. 2010). Selon la classification IRIS, les chiens non protéinuriques ont un RCPU inférieur à 0,2 et les chiens protéinuriques ont un RCPU supérieur à 0,5. Les valeurs intermédiaires sont considérées comme une protéinurie limite.

Un atteinte tubulaire précoce peut également être évaluée grâce à l'électrophorèse des protéines urinaires sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE) ou sur gel d'agarose (SDS-AGE), lorsque les protéines présentent ont un faible poids moléculaire. Inversement, si elles ont un haut poids moléculaire, l'atteinte est glomérulaire. Les chiens leishmaniens ont souvent un pattern mixte, correspondant à une atteinte glomérulaire et tubulo-interstitielle (Zatelli et al. 2003).

Enfin, l'atteinte tubulaire peut être identifié par la mesure de l'activité des enzymes urinaires GGT et N-acétyl- β -N-glucosaminidase. En effet, ces enzymes sont situées dans le cytoplasme des cellules épithéliales tubulaires et peuvent être trouvées dans l'urine lorsque les cellules sont lésées (Paltrinieri et al. 2016).

4 - Techniques de diagnostic étiologique

Une diversité de tests diagnostiques disponibles sur le marché permet de confirmer une suspicion de leishmaniose canine lorsque des signes cliniques ou des anomalies biologiques compatibles avec la maladie sont présents, dans un contexte épidémiologique compatible. Ils sont regroupés en deux catégories : les méthodes de diagnostic directes et les méthodes indirectes. La plupart des tests doivent être effectués dans des laboratoires de référence mais les plus simples, comme la cytologie de nœuds lymphatiques hypertrophiés ou d'autres tissus endommagés, ou le dosage immuno-chromatographique rapide, peuvent être effectués en clinique. Il faut aussi prendre en compte que la découverte d'amastigotes de *L. infantum* dans un tissu cible sain, comme la moelle osseuse ou la peau, ne permet pas de conclure à une leishmaniose clinique. Au contraire, l'implication du parasite est très probable s'il est détecté dans un tissu porteur de lésions compatibles avec la leishmaniose (Paltrinieri et al. 2010).

4.1 Tests de diagnostic direct

Les méthodes de diagnostic direct permettent de mettre en évidence le parasite ou son génome au sein de l'organisme du chien, à un instant donné.

4.1.1 La cytologie

L'analyse cytologique permet de détecter au microscope les amastigotes de *L. infantum* présents dans les macrophages de tissus infectés. Si la charge parasitaire est élevée, ils peuvent être retrouvés sur le fond du frottis à la suite d'une lyse cellulaire. Des changements cytologiques compatibles avec la leishmaniose, tels que l'inflammation lymphoplasmocytaire ou granulomateuse à pyogranulomateuse, l'hyperplasie réactive des nœuds lymphatiques, l'hyperplasie myéloïde ou l'hypoplasie érythroïde, peuvent également être remarqués (Paltrinieri et al. 2010).

Les échantillons prélevés diffèrent selon la localisation des lésions et les signes cliniques décrits. Pour les lésions cutanées, l'aspiration à l'aiguille fine des lésions papuleuses et nodulaires ainsi que le calque des lésions ulcéreuses sont recommandés. En effet, la présence d'amastigotes dans des masses nodulaires a été rapportée même dans des localisations atypiques, comme sur la langue, dans la bouche ou dans le nez (Levy et al. 2006; Viegas et al. 2012). Si une poly-adénomégalie ou une anémie sont rencontrées, les prélèvements préconisés sont respectivement l'aspiration à l'aiguille fine des nœuds lymphatiques hypertrophiés et de la moelle osseuse. La présence de *L. infantum* peut également être étudiée dans les fluides corporels pathologiques, comme le liquide synovial en cas de polyarthrite, le liquide céphalorachidien (LCR) en cas de signes neurologiques ou les épanchements. En l'absence de ces signes cliniques mais lorsque la suspicion clinique de leishmaniose est élevée, les échantillons doivent être prélevés dans des tissus dans lesquels les parasites sont les plus susceptibles d'être détectés, c'est-à-dire ceux contenant de nombreuses cellules du système phagocytaire mononucléé, à savoir la moelle osseuse, les nœuds lymphatiques, la rate ou le buffy coat provenant de sang périphérique par ordre décroissant de sensibilité diagnostique (Mylonakis et al. 2005; Saridomichelakis et al. 2005; Paltrinieri et al. 2010).

En utilisant la PCR comme référence, la spécificité de la cytologie des nœuds lymphatiques et de la moelle osseuse est de 100%, tandis que la sensibilité varie entre 7,8% et 92,6%, en étant significativement plus élevée chez les chiens symptomatiques que chez les chiens asymptomatiques (Mylonakis et al. 2005; Saridomichelakis et al. 2005). La détection d'amastigotes dans le LCR est difficile du fait de la faible cellularité dans ce liquide (Márquez et al. 2013). De même, la détection du parasite au niveau des lésions cutanées ulcéreuses est laborieuse en raison de la présence de nécrose, de débris cellulaires ou de bactéries (Paltrinieri et al. 2016).

4.1.2 L'histologie

L'analyse histologique permet de démontrer la présence d'amastigotes de *L. infantum* à partir de coupes histologiques systématiquement colorées à l'hémalum-éosine. L'histologie est conseillée lorsque la cytologie est négative, bien que l'identification morphologique soit plus compliquée, particulièrement en cas de dermatite ou de maladie cutanée. Une évaluation des changements cytologiques compatibles avec la leishmaniose est également possible, tels que l'inflammation lymphoplasmocytaire ou granulomateuse à pyogranulomateuse ou la vascularite dans plusieurs organes, la dermatose ischémique, la dermatite lymphoplasmocytaire des jonctions dermo-épithéliales ou l'hyperplasie lymphoïde de la rate et des nœuds lymphatiques (Paltrinieri et al. 2010; 2016).

Si l'évaluation histologique se révèle à son tour négative, la présence de parasite peut être confirmée par une coloration immunohistochimique, utilisant des anticorps dirigés contre les antigènes de *Leishmania sp.*, une hybridation *in situ* ou une PCR sur les échantillons (Müller et al. 2003; Maia, Campino 2008; Menezes et al. 2013; Santos et al. 2013).

4.1.3 La « Polymerase Chain Reaction » (PCR)

La « Polymerase Chain Reaction » (PCR) permet d'amplifier des séquences spécifiques du génome de *Leishmania sp.*, à partir de tissus ou de liquides biologiques prélevés sur les chiens.

Les techniques de PCR couramment utilisées sont la PCR conventionnelle, la PCR nichée et la PCR quantitative (qPCR). La PCR conventionnelle amplifie l'ADN du parasite grâce à l'utilisation d'amorces spécifiques. La PCR nichée est plus sensible que la méthode conventionnelle car deux PCR successives sont réalisées avec une ou deux amorces. Cependant, le risque de contamination est plus élevé du fait du nombre d'étapes plus important, réduisant donc la spécificité. La qPCR, quant à elle, permet de quantifier le nombre de copies d'ADN présentes dans un échantillon biologique grâce à des sondes fluorescentes. Selon la séquence cible, la sensibilité peut être équivalente à la PCR nichée mais sa spécificité est meilleure étant donné que le système est fermé (Paltrinieri et al. 2010).

Les espèces du genre *Leishmania* possèdent 34 à 36 chromosomes et un génome mitochondrial appelé kinétoplaste organisé en milliers de mini-cercles et plusieurs dizaines de maxi-cercles. Étant donné que les mini-cercles sont présents en milliers de copies par cellule, ils sont des cibles idéales pour la détection très sensible de *Leishmania*. Des gènes codant pour des protéines sont également utilisés comme séquence cible, comme ceux de la protéine de choc thermique (HSP70), de l'ADN polymérase, ... Ces cibles ont en général une spécificité élevée mais une sensibilité inférieure à celle des cibles avec un nombre élevé de copies, tels que les mini-cercles. (Galluzzi et al. 2018).

La sensibilité et la spécificité varient selon la technique employée et la séquence d'ADN cible choisie. Aujourd'hui, la plupart des tests PCR utilisés ciblent des séquences d'ADN multicopies pour augmenter la sensibilité (Paltrinieri et al. 2016).

Les techniques de PCR peuvent être appliquées pratiquement sur n'importe quel tissu ou fluide biologique. Étant donné que l'analyse cytologique et l'analyse histologique sont moins sensibles, des résultats négatifs n'exclut pas qu'un faible nombre de parasites soit présent dans l'échantillon prélevé. Si aucune lésion n'est présente mais que la suspicion de leishmaniose est forte, les tissus à privilégier pour le prélèvement sont par ordre décroissant de sensibilité la moelle osseuse ou les nœuds lymphatiques, la peau, la conjonctive, la rate, le buffy coat et le sang périphérique (Paltrinieri et al. 2010; 2016). Des études ont démontré que la PCR à partir d'écouvillons conjonctivaux, buccaux ou nasaux est très sensible, même chez des animaux asymptomatiques. Ces prélèvements indolores, non invasifs et rapides seraient donc à privilégier (Gramiccia et al. 2010; Ferreira et al. 2013; Carvalho Ferreira et al. 2014).

Lors de l'interprétation des résultats, il faut évidemment prendre en compte le contexte dans lequel la PCR est utilisée. En effet, certains chiens ont une réponse immunitaire efficace, l'infection n'est alors pas suivie d'une dissémination parasitaire dans l'organisme. Un résultat positif ne signifie pas que le chien présente une leishmaniose clinique, à moins que toute autre maladie possible ne soit exclue. Par exemple, une positivité par PCR dans la moelle osseuse ou dans la peau de chiens présents dans une zone endémique peut être transitoire et ne prédit pas qu'une forme clinique de la maladie va être développée. Cependant, un résultat positif par PCR provenant de lésions compatibles avec la leishmaniose ou du sang ou de la moelle osseuse d'un chien présentant des signes cliniques et/ou paracliniques de leishmaniose soutient le diagnostic (Paltrinieri et al. 2010; 2016).

4.1.4 La « Loop-Mediated Isothermal Amplification » (LAMP)

La « Loop-Mediated Isothermal Amplification » (LAMP) est une autre technique d'amplification du génome, alternative à la PCR, décrite dans la littérature mais plutôt utilisée dans le cadre de la recherche. Elle est basée sur l'utilisation de sondes marquées avec des nanoparticules et l'amplification est isotherme (Paltrinieri et al. 2016).

4.1.5 Le xénodiagnostique

Le xénodiagnostique consiste à mettre en contact des phlébotomes naïfs, élevés en laboratoire, avec un chien suspect de leishmaniose. Les vecteurs sont ensuite examinés pour détecter la présence de promastigotes dans leur intestin (Paltrinieri et al. 2010).

Cette méthode est très sensible et spécifique car elle certifie que les chiens hébergent le parasite mais démontrent également que les protozoaires sont viables et que les chiens peuvent infecter d'autres animaux. Cependant, ce test n'est pas utilisé en routine et est réservé à la recherche dans des laboratoires agréés (Paltrinieri et al. 2016).

4.1.6 La culture des leishmanies

La culture des leishmanies est très spécifique en raison du développement de promastigotes viables. Toutefois, l'obtention des résultats nécessite une longue période, jusqu'à 30 jours, dans des laboratoires spécialisés ne permettant pas l'utilisation de ce test en pratique courante (Paltrinieri et al. 2010).

4.2 Tests de diagnostic indirect utilisés couramment

Les méthodes de diagnostic indirect permettent de mettre en évidence une réponse immunitaire de l'hôte dirigée contre *L. infantum*, témoignant d'un contact entre le chien et l'agent pathogène. En effet, la séroconversion suite à une infection naturelle peut varier entre 1 et 22 mois avec une médiane à 5 mois (Paltrinieri et al. 2010). Si la réponse immunitaire de l'hôte est efficace, les titres en anticorps ont tendance à rester faibles ou négatifs. Inversement, une dissémination incontrôlée du parasite dans l'organisme est associée à une réponse humorale exagérée. De ce fait, les titres en anticorps sont élevés lorsque la maladie est évidente. Bien que les titres en anticorps élevés sont corrélés à des scores cliniques moyens à élevés, des titres en anticorps faibles à moyens peuvent également être détectés chez des chiens présentant des signes cliniques (Proverbio et al. 2014; Paltrinieri et al. 2016).

Une sérologie quantitative doit toujours être réalisée lors de suspicion clinique de leishmaniose. Un titre élevé en anticorps est alors souvent compatible avec la maladie alors qu'un titre faible indique que la leishmaniose ne doit être envisagée que si les autres maladies potentiellement responsables de la présentation clinique de l'animal ont été exclues (Paltrinieri et al. 2016).

Bien que certains tests de diagnostics indirects donnent une grande précision diagnostique, comme le Western blot, ils ne sont pas utilisés en clinique en raison de la méthode laborieuse et d'un coût élevé. Les trois techniques les plus couramment utilisées sont l'immunofluorescence indirecte (IFI), l'ELISA et l'immunochromatographie sur membrane.

4.2.1 L'immunofluorescence indirecte (IFI)

L'immunofluorescence indirecte (IFI) est considérée comme une méthode de référence pour la sérologie chez les chiens par l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OMSA) du fait de sa sensibilité élevée et de sa spécificité élevée, tendant vers 100% pour les deux en Europe. Cependant, dans les zones endémiques pour *Trypanosoma cruzi* et *Leishmania sp.*, notamment en Amérique centrale, en Amérique du Sud et dans certaines régions du Sud des États-Unis, une réaction croisée existe et diminue la spécificité du test (Hunter 2001; Paltrinieri et al. 2016).

La méthode consiste à placer des dilutions sériques en série sur des lames recouvertes de promastigotes de *Leishmania sp.* La liaison spécifique entre les anticorps sériques dirigés contre le parasite et les antigènes présents sur les lames est mise en évidence par l'utilisation d'anticorps fluorescents. L'évaluation de l'intensité de la fluorescence par microscopie permet de connaître le titre en anticorps du patient, correspondant à la dernière dilution émettant une fluorescence. Cependant, une limite du test est que l'interprétation de l'intensité de la fluorescence est subjective. En raison de la variabilité des facteurs dépendants de l'opérateur ou analytiques, les échantillons devraient être examinés par le même laboratoire et par la même méthode tout au long du suivi du chien (Paltrinieri et al. 2010).

Les résultats de ce test doivent être considérés avec prudence et doivent toujours être comparés à la valeur du seuil indiqué par le laboratoire de référence. En effet, il n'y a pas de consensus entre les laboratoires sur ce titre seuil, qui peut varier de 1/40 à 1/320. Un titre est considéré comme élevé s'il est deux à quatre fois supérieur à la valeur seuil indiquée, et comme faible lorsqu'il est égal ou deux fois supérieur à la valeur seuil (Paltrinieri et al. 2010).

4.2.2 L'ELISA (« Enzyme-Linked Immunosorbent Assay »)

L'ELISA (« Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ») est un test immuno-enzymatique utilisant des antigènes recombinants spécifiques des leishmanies. Le sérum dilué est placé sur des microplaques recouvertes d'antigènes. Si une réaction colorimétrique apparaît, le résultat est alors positif et peut être quantifié par

spectrophotométrie, n'impliquant donc pas d'évaluation subjective. La valeur de la densité optique obtenue est convertie en titre en anticorps sur la base d'un échantillon de référence (Paltrinieri et al. 2010).

La sensibilité de ce test est moyenne à élevée, étant meilleure lorsque plusieurs antigènes sont utilisés, et sa spécificité est élevée (Paltrinieri et al. 2010; 2016).

4.2.3 L'immunochromatographie

L'immunochromatographie est un test disponible en kit rapide, basé sur un ou plusieurs antigènes recombinants de *Leishmania sp.* selon le kit, pouvant être utilisé en clinique et fournissant un résultat qualitatif (c'est-à-dire présence ou absence d'anticorps).

Ses performances diagnostiques sont généralement inférieures à celles de l'IFI et de l'ELISA. Sa spécificité est moyenne à élevée mais sa sensibilité est basse, variant de 30% à 70%. Le principal problème de ce test est qu'il donne de nombreux faux négatifs, surtout chez les chiens asymptomatiques. En conséquence, si la suspicion clinique de leishmaniose persiste malgré un résultat négatif, d'autres tests sérologiques avec des méthodes plus sensibles doivent être réalisés (Paltrinieri et al. 2010; 2016). Certains de ces tests peuvent distinguer les réactions sérologiques liée à *Leishmania sp.* de celles à *Trypanosoma cruzi* ou bien les chiens vaccinés des chiens infectés (Teodoro Da Costa et al. 2003; Paltrinieri et al. 2016).

4.3 Démarche diagnostique

L'utilisation de tests étiologiques est requise d'une part dans un contexte de démarche diagnostique lors de suspicion de leishmaniose au vu des signes cliniques et paracliniques d'un chien, et d'autre part, dans un contexte d'étude de la prévalence des chiens infectés ou ayant été en contact avec le parasite au cours de leur vie (**Figure 22**).

D'après Paltrinieri et al. (2016), chez les chiens présentant une forte suspicion clinique de leishmaniose, les prélèvements à privilégier sont les lésions accessibles pour obtenir des lames cytologiques et/ou histologiques. Le chien est considéré

malade si des amastigotes de *L. infantum* sont retrouvés. Dans ce cas, il est conseillé de déterminer la charge parasitaire avec une PCR quantitative, une valeur de base utile pour le suivi du traitement. En revanche, si aucun parasite n'a été observé mais que les analyses cytologiques et/ou histologiques sont compatibles avec la leishmaniose, ces prélèvements peuvent être analysés par immunohistochimie, hybridation *in situ* ou PCR. Un résultat positif avec l'un de ces tests supplémentaires conclut à un diagnostic de leishmaniose. Cependant, si ces tests sont négatifs, la dernière étape consiste à réaliser une cytologie ou une PCR de la moelle osseuse ou des nœuds lymphatiques, ainsi qu'une sérologie quantitative.

Chez les chiens présentant une forte suspicion clinique de leishmaniose sans lésions accessibles pour des prélèvements cytologiques ou histologiques, la réalisation d'une sérologie quantitative est conseillée car elle est concluante pour le diagnostic si le titre en anticorps est élevé. Cependant, si le titrage en anticorps est bas, une cytologie ou une PCR de la moelle osseuse ou des nœuds lymphatiques est préconisée.

Chez les chiens asymptomatiques, vivants ou ayant voyagés dans une zone endémique, le test de choix est une sérologie quantitative au moins 6 mois après l'exposition pour prendre en compte le délai de séroconversion. Si la sérologie est positive avec un faible titre en anticorps, le chien est considéré comme exposé ou se situe dans une phase précoce de la maladie, tandis que si le titrage en anticorps est élevé, le chien est infecté ou malade. Dans ce deuxième cas, les étapes diagnostiques ultérieures doivent confirmer l'infection suspectée par analyse cytologique ou PCR de la moelle osseuse ou des nœuds lymphatiques et/ou par l'identification d'anomalies de laboratoire typiques.

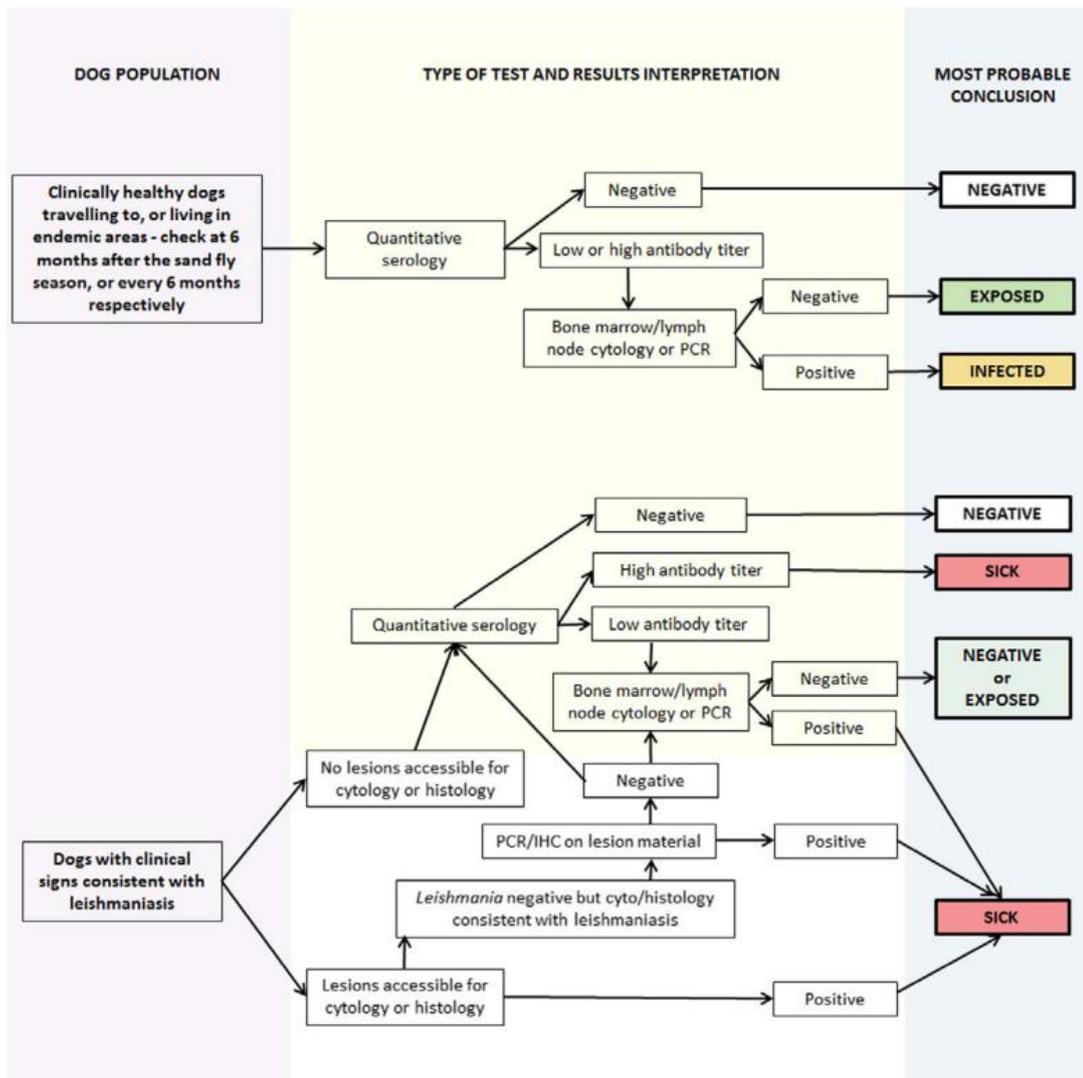


Figure 22 : Organigramme illustrant l'approche diagnostique recommandée pour les chiens asymptomatiques, vivants ou ayant voyagés dans une zone endémique, et pour les chiens présentant des signes cliniques compatibles avec la leishmaniose (Paltrinieri et al. 2016)

5 - Classification clinique des chiens

5.1 Classification clinique proposée par le groupe LeishVet

LeishVet (<https://www.leishvet.org>) est un groupe de vétérinaires européen, spécialistes en parasitologie, avec un intérêt clinique et scientifique principal pour la leishmaniose. Il a été créé lors du congrès WorldLeish3 en 2005 et officiellement enregistré en tant qu'association en mai 2008. L'objectif principal est de développer des recommandations consensuelles pour le diagnostic et le traitement d'une infection

à *L. infantum* chez les chiens en s'aidant des données récentes de la littérature (Solano-Gallego et al. 2009).

D'après Solano-Gallego et al. (2011), la prise en charge thérapeutique de la leishmaniose est complexe étant donné l'éventail des manifestations cliniques de la maladie. Le groupe LeishVet propose une classification des chiens en quatre groupes selon le statut sérologique, des critères cliniques et les résultats des analyses hématologiques, biochimiques et urinaires. Ces groupes vont aider le clinicien à déterminer la prise en charge thérapeutique appropriée, à prévoir le pronostic et à mettre en place un suivi adéquat.

5.1.1 Stade I : maladie légère

Les chiens présentant une maladie légère (stade I) ont un titrage sérologique négatif à faiblement positif et des signes cliniques modérés tels qu'une lymphadénomégalie isolée ou une dermatite papuleuse. Aucune anomalie n'est habituellement observée sur les résultats d'analyses hématologiques et biochimiques, avec notamment des paramètres rénaux dans les normes (créatininémie inférieure à 1,4 mg/dL et un RPCU inférieur à 0,5).

5.1.2 Stade II : maladie moyenne

Les chiens présentant une maladie moyenne (stade II) ont un titrage sérologique faible à très élevé et des signes cliniques modérés comme précédemment ou des lésions cutanées diffuses ou symétriques telles qu'une dermatite exfoliative, une onychogryphose, des ulcérations (de la truffe, des coussinets, des saillies osseuses ou encore des jonctions muco-cutanées), une lymphadénomégalie généralisée, une perte d'appétit ou une perte de poids. Ils présentent également une légère anémie non régénérative, une hyper-gammaglobulinémie, une hypoalbuminémie ou un syndrome d'hyperviscosité sanguine. Les paramètres rénaux permettent de distinguer deux sous stades, le sous stade II.a avec un profil rénal normal (créatininémie inférieure à 1,4 mg/dL et un RPCU inférieur à 0,5) et le sous

stade II.b avec une légère protéinurie (créatininémie inférieure à 1,4 mg/dL avec un RPCU compris entre 0,5 et 1).

Les titres élevés en anticorps sont diagnostics de la leishmaniose à partir de titres de 3 à 4 fois le seuil de référence bien établi d'un laboratoire.

5.1.3 Stade III : maladie grave

Les chiens présentant une maladie grave (stade III) ont un titrage sérologique moyen à élevé et hormis les signes cliniques des stades précédents, peuvent avoir des signes liés aux dépôts de complexes immuns, comme une uvéite ou une glomérulonéphrite. De plus, une maladie rénale chronique est déclarée, de stade IRIS I (créatininémie inférieure à 1,4 mg/dL) avec un RPCU compris entre 1 et 5 ou de stade IRIS II (créatininémie comprise entre 1,4 et 2 mg/dL).

5.1.4 Stade IV : maladie très grave

Les chiens présentant une maladie très grave (stade IV) ont un titrage sérologique moyen à élevé et des signes cliniques retrouvés au stade III, éventuellement associé à une thrombo-embolie pulmonaire, un syndrome néphrotique ou un stade terminal de maladie rénale chronique. Dans ce cas, la maladie rénale chronique est gradée au stade IRIS III (créatininémie comprise entre 2,1 et 5 mg/dL) ou de stade IRIS IV (créatininémie supérieure à 5 mg/dL) et les chiens peuvent présenter un syndrome néphrotique avec une protéinurie marquée (RPCU supérieur à 5).

5.2 Classification clinique proposée par le « Canine Leishmaniasis Working Group » (CLWG)

D'après (Paltrinieri et al. 2010), l'infection à *L. infantum* peut se développer sur une période de quelques semaines à plusieurs mois avec des manifestations cliniques très variables. Il n'est donc pas toujours évident de classer les chiens dans des

catégories spécifiques. Néanmoins, lorsque la leishmaniose est diagnostiquée, il est nécessaire d'attribuer un stade clinique pour mettre en place un traitement adéquat ainsi que pour le suivi de la maladie, qui peut s'aggraver vers des stades irréversibles. Le « Canine Leishmaniasis Working Group » (CLWG), crée en 2005 en collaboration avec la Société Italienne des Vétérinaires des Animaux de Compagnie, a pour objectif de développer une approche scientifique consensuelle sur le diagnostic, la classification clinique, le traitement et la prévention de la leishmaniose. Ce groupe propose une classification des chiens en quatre groupes selon des critères cliniques et les résultats de tests diagnostiques (Oliva et al. 2010; Paltrinieri et al. 2010). Il s'agit d'un système de classification un peu différent de celui proposé par le groupe LeishVet. Ce système propose une aide aux cliniciens pour la gestion des chiens atteints, compte tenu de la complexité de la maladie.

5.2.1 Stade A : les chiens exposés

Les chiens exposés (stade A) sont asymptomatiques ou présentent des signes cliniques associés à d'autres maladies, ont un titrage sérologique faible mais le parasite n'a pas été mis en évidence par diagnostic direct.

Habituellement, ce sont les chiens qui ont vécu au moins une saison dans une zone géographique où la présence de vecteurs a été confirmée.

5.2.2 Stade B : les chiens infectés

Les chiens infectés (stade B) sont asymptomatiques ou présentent des signes cliniques associés à d'autres maladies, ont un titrage sérologique faible et le parasite a été mis en évidence par diagnostic direct.

En zone endémique, un résultat PCR sur peau ou sang périphérique positif en l'absence de lésions et obtenu pendant la période de transmission de l'infection n'est pas suffisant pour considérer un chien comme infecté.

5.2.3 Stade C : les chiens malades

Les chiens malades (stade C) présentent un ou plusieurs signes cliniques compatibles avec la leishmaniose, ont un titrage sérologique élevé et le parasite a été mis en évidence par diagnostic direct. En l'absence de signes cliniques détectables à l'examen clinique, ces chiens sont tout de même considérés malades s'ils présentent des altérations évocatrices de leishmaniose de leurs paramètres hématologiques, biochimiques et urinaires.

5.2.4 Stade D : les chiens sévèrement malades

Les chiens sévèrement malades (stade D) sont inclus dans cette catégorie s'ils présentent au moins un des critères suivants :

- Une néphropathie associée à une protéinurie ou une insuffisance rénale chronique ;
- Un problème concomitant, comme une maladie oculaire entraînant une perte de fonction visuelle ou une atteinte articulaire à l'origine d'une altération de la mobilité, lié ou non à la leishmaniose, et nécessitant un traitement immunosuppresseur ;
- Une affection concomitante, y compris des co-infections ou des maladies néoplasiques, endocriniennes ou métaboliques ;
- Une absence de réponse clinique aux traitements anti-leishmaniens répétés.

6 - Traitement

6.1 Traitement spécifique : molécules utilisées

Avec les traitements disponibles en médecine vétérinaire, l'élimination complète du parasite n'est pas possible. En outre, les rechutes sont fréquentes suite à l'arrêt du traitement, l'emploi des molécules doit donc être envisagé sur le long terme (Lamoureux et al. 2016).

6.1.1 L'antimoniote de méglumine

L'antimoniote de méglumine inhibe de manière sélective les enzymes nécessaires pour la glycolyse et l'oxydation des acides gras chez les leishmanies, révélant une activité leishmanicide (Oliva et al. 2010; Lamoureux et al. 2016).

En France, il est commercialisé sous le nom de Glucantime®. Le schéma thérapeutique est de 100 mg/kg une fois par jour par voie sous cutanée pendant 4 semaines (Lamoureux et al. 2016). Cependant, il a une demi-vie courte chez le chien, respectivement de 21, 42 et 122 minutes lorsqu'il est administré par voie intraveineuse, intra-musculaire et sous-cutanée. De ce fait, 80% à 95% de l'antimoniote de méglumine est éliminé par les reins six à neuf heures après l'administration. En raison de ces propriétés pharmacocinétiques, la posologie peut être divisée en deux doses quotidiennes de 50 mg/kg (Oliva et al. 2010).

Les effets indésirables les plus courants sont la douleur et le gonflement au niveau du point d'injection. Mais d'autres signes cliniques ou biologiques comme la fièvre, la diarrhée, une dysorexie, une augmentation transitoire des activités enzymatiques des ALAT et de l'amylase ont été rapportées (Oliva et al. 2010). Des études ont montré une néphrotoxicité possible, caractérisée par des lésions tubulaires suite à la nécrose et l'apoptose des cellules (Bianciardi et al. 2009). D'autres études ont démontré qu'aucun effet toxique sur le tissu cardiaque ou pancréatique n'est induit contrairement à ce qui est observé chez les patients humains (Xenoulis et al. 2014).

Une amélioration clinique et paraclinique est observée dès une semaine de traitement, ainsi qu'une réduction de la charge parasitaire et une restauration de la réponse immune à médiation cellulaire sans guérison parasitaire. Mais les rechutes cliniques sont possibles entre quelques mois à 2 ans suivant le traitement et sont plus fréquentes si la durée du traitement est inférieure à 4 semaines. Au final, l'initiation d'un traitement antimonial au moment du diagnostic associé à la prise en charge correcte des rechutes entraîne une survie de 4 ans chez 75% des chiens traités (Oliva et al. 2010).

6.1.2 L'allopurinol

L'allopurinol est un analogue structure de l'hypoxanthine et inhibe l'activité de la xanthine oxydase catalysant la conversion de xanthine, produit de la voie de dégradation de la purine, en acide urique. Il est utilisé chez l'homme pour le traitement de l'hyperuricémie (ou « goutte »). Cette molécule a également une activité leishmaniostatique en inhibant la réplication parasitaire car les leishmanies ne peuvent pas synthétiser de purines *ex novo* et nécessitent l'apport de celles-ci par l'organisme de l'hôte. De plus, l'allopurinol est transformé en un composé toxique pour la forme amastigote des leishmanies, le 4-amino-pyrazole-pyrimidine (Oliva et al. 2010; Lamoureux et al. 2016; Torres et al. 2016).

L'allopurinol est à administrer à la dose de 10 mg/kg deux fois par jour par voie orale pendant 6 à 12 mois minimum. Néanmoins, certains animaux nécessitent un traitement plus long, parfois à vie (Oliva et al. 2010; Lamoureux et al. 2016). L'arrêt de l'allopurinol est possible si le chien présente une récupération physique et clinico-pathologique complète, au moins un an après le début du traitement, ainsi qu'une diminution marquée du taux d'anticorps, qui doit être négatif à faiblement positif. Cependant, certains chiens extrêmement sensibles n'arrivent jamais à un point permettant de contrôler l'infection et donc d'arrêter ce traitement (Solano-Gallego et al. 2009).

Le seul effet indésirable de l'allopurinol est la formation de cristaux de xanthine dans l'urine en raison de son mécanisme d'action en tant qu'inhibiteur de la xanthine oxydase. Du fait de sa solubilité légère dans l'urine à n'importe quel pH, le risque de formation de cristaux de xanthine autour d'autres urolithes ou de lithiase urinaire de xanthine est élevée chez les chiens sous traitement long (Jesus et al. 2022). En effet, dans l'étude de (Torres et al. 2016), 13% des chiens traités avec de l'allopurinol ont présenté de la xanthinurie, seule ou en combinaison avec des minéralisations rénales et des lithiases urinaires.

Une amélioration clinique modérée et une restauration partielle des protéines de la phase aiguë de l'inflammation sont remarquées deux à trois mois après le début du traitement. Comme l'antimoniote de méglumine, aucune guérison parasitologique complète n'est observée et des rechutes sont possible lors de l'arrêt du traitement (Oliva et al. 2010).

6.1.3 La miltéfosine

La miltéfosine est une alkyl-phosphocoline altérant les voies de signalisation et de synthèse de la membrane cellulaire, conduisant à la mort du parasite (Oliva et al. 2010).

Ce médicament dispose d'une AMM et est utilisé dans plusieurs pays européens chez les chiens atteints de leishmaniose. Le schéma thérapeutique est de 2 mg/kg une fois par jour pendant 28 jours par voie orale, seul ou en association avec l'allopurinol. Cependant, des rechutes cliniques ont été rapportées quand le médicament est utilisé seul, alors que son efficacité est meilleure quand elle est administrée avec l'allopurinol (Oliva et al. 2010). Cette combinaison a d'ailleurs la même efficacité clinique et parasitologique que la combinaison d'antimoniote de méglumine et d'allopurinol (Miró et al. 2009).

En France, la miltéfosine est réservée pour traiter les cas de leishmaniose humaine, notamment chez les patients immunodéprimés. Elle est donc interdite pour l'usage vétérinaire. Dans le cadre du respect de la cascade, seul l'antimoniote de méglumine possède une autorisation de mise sur le marché et doit donc être utilisée en priorité pour le traitement de la leishmaniose. Or, dans des cas particuliers (insuffisance rénale aiguë, échec du traitement de consensus), une demande argumentée auprès de l'Agence Nationale du Médicament (ANSES) est possible (Lamoureux et al. 2016).

Les effets indésirables sont mineurs, par exemple des vomissements auto-résolutifs ou de la diarrhée (Oliva et al. 2010). Dans l'étude de Miró et al. (2009), aucune rechute ni effet indésirable grave n'a été signalé chez les chiens traités avec de la miltéfosine. Chez les femelles gestantes, cette molécule est à déconseiller car elle est abortive et tératogène.

L'élimination complète des parasite n'est pas possible malgré la réduction drastique et progressive de la charge parasitaire dans les nœuds lymphatiques (Oliva et al. 2010).

6.1.4 Le traitement de consensus : l'association de l'antimoniote de méglumine et de l'allopurinol

Le traitement de consensus actuel associe l'antimoniote de méglumine et l'allopurinol. Le protocole courant consiste à administrer 100 mg/kg d'antimoniote de méglumine une fois par jour pendant 1 à 2 mois par voie sous-cutanée combiné avec 10 à 30 mg/kg d'allopurinol deux fois par jour pendant plusieurs mois par voie orale (Solano-Gallego et al. 2009; Oliva et al. 2010; Lamoureux et al. 2016).

Comme pour les deux molécules employées indépendamment, aucune guérison parasitaire complète n'est remarquée. Cependant, les chiens traités avec cette combinaison ont une période de rémission clinique plus longue (Oliva et al. 2010; Torres et al. 2011).

Les effets indésirables sont similaires que ceux rapportés pour l'administration de l'un ou l'autre médicament utilisé seul (Oliva et al. 2010).

6.1.5 Autres traitements

D'autres molécules sont décrites dans la littérature mais leur usage n'est pas autorisé en France. Oliva et al. (2010) détaillent tous les protocoles pouvant être utilisés pour traiter les chiens atteints de leishmaniose.

L'aminosidine (ou la paromomycine) possède une activité antibactérienne et anti-protozoaire en altérant l'association de sous-unités ribosomiques et induisant alors un dysfonctionnement respiratoire chez les leishmanies. Ce médicament peut être utilisé en monothérapie et en combinaison avec de l'antimoniote de méglumine. Le protocole couramment utilisé chez les chiens est de 5 mg/kg de paromomycine une fois par jour pendant 3 semaines par voie sous-cutanée associé à 60 mg/kg d'antimoniote de méglumine deux fois par jour pendant 4 semaines par voie intramusculaire. Les résultats cliniques et parasitologiques sont meilleurs avec cette association que lorsque les médicaments sont utilisés seuls. Cependant, des effets secondaires graves ont été décrits, comprenant une néphrotoxicité et une ototoxicité, ne permettant pas de recommander ce traitement en première intention (Solano-Gallego et al. 2009).

L'amphotéricine B agit sur les stérols membranaires fongiques. Sa préparation et son administration par voie intraveineuse sont complexes ne permettant pas d'utiliser ce médicament couramment, bien qu'une guérison clinique soit observée chez la plupart des chiens traités. Les rechutes sont fréquentes et les effets toxiques rapportés sont une néphrotoxicité, une hyperthermie, des vomissements et de l'anorexie. Ce traitement est donc à déconseiller.

La pentamidine est une diamidine aromatique qui agit sur la biosynthèse de la polyamine et le potentiel membranaire mitochondrial. Utilisé pendant les années 1980 chez les chiens atteints de leishmaniose, des effets secondaires graves ont été recensés tels que des vomissements, de la diarrhée, de l'hypersalivation, de l'hypotension systémique et des chocs anaphylactiques.

Le métronidazole a une activité anti-leishmanienne *in vitro*. La combinaison de 25 mg/kg de métronidazole une fois par jour par voie orale avec 150 000 U/kg de spiramycine une fois par jour par voie orale n'a montré aucune différence significative avec la combinaison antimoniate de méglumine et allopurinol.

La marbofloxacin est une fluoroquinolone de troisième génération ayant un spectre d'activité contre plusieurs espèces de bactéries, comprenant des Gram négatifs et des Gram positifs, en inhibant l'enzyme bactérienne de l'ADN gyrase. Or, les trypanosomes partagent de nombreuses similitudes dans leur structures génomiques avec celles des bactéries. La posologie utilisée couramment et démontrée efficace est 2 mg/kg une fois par jour.

L'enrofloxacin est aussi une fluoroquinolone. Une amélioration clinique partielle de courte durée a été décrite lorsqu'elle est utilisée seule ou en association avec le métronidazole.

La dompéridone est un antagoniste des récepteurs de la dopamine D2 avec une activité prokinétique et antiémétique. L'effet anti-dopaminergique entraîne la libération de sérotonine, stimulant à son tour la production de prolactine, une cytokine dérivée des lymphocytes pro-inflammatoires. Lorsqu'elle est administrée à 1 mg/kg deux fois par jour pendant un mois, une réduction des signes clinique et des titres en anticorps est remarquée chez la plupart des chiens traités. De plus, aucun effet indésirable n'a été observé au cours de l'étude.

6.2 Protocoles de traitement

Le protocole de traitement doit être adapté en fonction du stade clinique dans lequel le chien est classé.

Pour les chiens classés stade 1 ou A selon les classifications proposées par les groupes LeishVet et CLWG respectivement, la mise en place d'un traitement spécifique n'est pas nécessaire. Des examens cliniques et de laboratoire sont conseillés tous les trois à six mois pour évaluer la progression de l'infection. En effet, si les titres en anticorps augmentent significativement, ces chiens doivent être traités (Solano-Gallego et al. 2009; Oliva et al. 2010; Lamoureux et al. 2016). Néanmoins, des auteurs estiment qu'un traitement peut être initié en ayant recours à une ou deux molécules, mais de plus courte durée (Solano-Gallego et al. 2011). Il existe peu de données sur ce stade impliquant un choix entre les différentes options thérapeutiques.

Pour les chiens classés dans les autres stades, un traitement associant l'antimoniote de méglumine et l'allopurinol doit être mis en place. Le protocole le plus utilisé est l'administration de 100 mg/kg d'antimoniote de méglumine une fois par jour par voie sous cutanée pendant 4 semaines associée à l'administration de 10 mg/kg d'allopurinol deux fois par jour par voie orale pendant au moins 6 mois. Si l'observance de ce traitement est correctement respectée, une guérison clinique stable pendant plus d'un an ainsi qu'une diminution de la charge parasitaire pendant plusieurs mois devrait être remarquée chez les chiens de stade 2 et 3 ou B et C selon les classifications. Cependant, chez les chiens de stade 4 ou D, ce protocole peut augmenter les chances d'amélioration mais ne pas aboutir à une guérison clinique (Oliva et al. 2010).

Chez les chiens présentant une insuffisance rénale chronique, un traitement auxiliaire doit être initié en suivant les recommandations de l'IRIS (Oliva et al. 2010; Solano-Gallego et al. 2011). Le traitement spécifique doit être instauré individuellement et l'utilisation d'antimoniote de méglumine doit être raisonné du fait de son accumulation dans l'organisme en cas de lésions rénales augmentant sa toxicité rénale (Lamoureux et al. 2016).

En cas d'inefficacité du traitement, de rechutes rapides, d'effets indésirables graves ou du non-respect de l'observance par le propriétaire, un traitement alternatif peut être mis en place. Dans ce cas, l'allopurinol peut être administré seul à 10 mg/kg deux fois par jour par voie orale pendant au moins 6 mois, ou en association à la même

posologie avec la miltéfosine administrée à 2 mg/kg une fois par jour par voie orale pendant 28 jours. Les autres médicaments pouvant être utilisés sont l'amphotéricine B, l'aminosidine et la pentamidine mais sont fortement limités par leurs effets indésirables graves (Oliva et al. 2010).

6.3 Pronostic

Le pronostic de chaque patient dépend de son statut clinico-pathologique et donc du stade clinique dans lequel il est affecté. En effet, selon Solano-Gallego et al. (2011), en utilisant la classification du groupe LeishVet, le pronostic est bon pour le stade 1, favorable à réservé pour le stade 2, réservé à sombre pour le stade 3 et mauvais pour le stade 4. Environ 25% des chiens exposés en zone endémique peuvent développer une séro-réversion en quelques mois, même en l'absence de traitement. Le pronostic chez les chiens infectés est favorable si l'infection ne progresse pas vers une maladie clinique, allant de quelques semaines à plusieurs années ou toute la vie de l'animal. Mais actuellement, aucun test de laboratoire ne peut prédire si un chien infecté développera une maladie clinique ou non (Roura et al. 2013).

L'atteinte rénale assombrit le diagnostic. En effet, les chiens classés stades 3 ou 4 de l'IRIS ont un pronostic plus mauvais que ceux des stades IRIS 1 ou 2. D'après Roura et al. (2013), 75% des chiens sans signe d'atteinte rénale vivent au moins plus de quatre ans s'ils reçoivent un traitement adéquat. L'insuffisance rénale avancée est la principale cause de décès ou raison d'euthanasie chez les chiens leishmaniens, en particulier en cas d'anémie ou d'acidose métabolique. La protéinurie ainsi que l'hypoalbuminémie et la lymphopénie sont des facteurs pronostiques négatifs chez les chiens atteints de leishmaniose (Geisweid et al. 2012).

Le protocole thérapeutique peut aussi influencer le pronostic. Un traitement avec de l'allopurinol seul ou en association avec de l'antimoniote de méglumine ou de la miltéfosine améliore l'espérance de vie. D'après Torres et al. (2011), 90% des chiens ayant des paramètres rénaux normaux ou seulement une protéinurie légère (RPCU inférieur à 1) présentent une amélioration des signes cliniques dans les trois mois suivant le traitement de consensus. Geisweid et al. (2012) montre que le traitement est corrélé avec une survie plus longue de près de deux ans. Concernant les

protocoles alternatifs, peu de données sont disponibles sauf pour la marbofloxacin où, lorsqu'elle est administrée seule, 50% de rechutes sont observées après cinq mois. En l'absence de traitement, 30% à 70% des chiens infectés en région endémique développent une maladie clinique dans les deux à trois ans suivant le diagnostic (Roura et al. 2013).

La race du chien peut aussi permettre de prévoir le pronostic. Effectivement, les chiens de race Podenco d'Ibiza ont une réponse immunitaire à médiation cellulaire les rendant relativement résistants à l'infection. Au contraire, d'autres races comme les Boxers sont très sensibles (Roura et al. 2013).

Les taux d'anticorps ne sont pas corrélés avec le pronostic (Geisweid et al. 2012).

6.4 Suivi

Les paramètres clinico-pathologiques à surveiller pendant le traitement dépendent des anomalies individuelles observées et visent à contrôler l'évolution de l'état clinique, de la charge parasitaire et des effets toxiques éventuels du traitement.

La fonction rénale est évaluée grâce à la créatininémie et à la quantification séquentielle de la protéinurie. Le rétablissement de la fonction rénale dépend de la gravité des lésions rénales au moment du diagnostic. Des contrôles fréquents sont conseillés pour les chiens classés aux stades IRIS 3 et 4, alors qu'un contrôle n'est nécessaire qu'à la fin du premier cycle de traitement pour ceux classés aux stades IRIS 1 et 2. L'évaluation post-traitement est conseillée tous les 12 mois chez les chiens de stade IRIS 1, tous les 6 mois chez les chiens de stade IRIS 2, tous les 3 mois chez les chiens de stade IRIS 3 et toutes les 6 semaines chez les chiens de stade IRIS 4 (Paltrinieri et al. 2016).

L'état inflammatoire peut être surveillé par une analyse séquentielle d'électrophorèse des protéines sériques. Une diminution progressive des alpha et gamma globulines est remarquée 2 à 3 semaines puis 4 à 6 semaines après le début du traitement avec de l'antimoniote de méglumine. Par conséquent, la première électrophorèse des protéines sériques doit être réalisée un mois après le début du traitement au plus tôt, même si la normalisation complète des profils nécessite au moins 90 à 120 jours. Si après ce délai, les profils sont encore anormaux, une maladie

concomitante, notamment d'autres infections à transmission vectorielle, doit être envisagée. Si un traitement avec d'autres médicaments est mis en place, la diminution des gamma globulines peut être plus longue et le risque de rechutes est plus élevé (Manna et al. 2015). Les concentrations de la protéine C-réactive et de la SAA diminuent dans les 2 semaines suivant le début du traitement avec de l'antimoniote de méglumine et reviennent dans l'intervalle de référence en un mois environ (Paltrinieri et al. 2016).

Comme cité précédemment, les effets toxiques pouvant être induits par les médicaments sont une néphrotoxicité pour l'antimoniote de méglumine et la formation de cristaux de xanthine dans l'urine et éventuellement des urolithes pour l'allopurinol. En conséquence, lorsque l'allopurinol est administré sur une longue période ou lorsque l'urine apparaît macroscopiquement trouble ou forme un culot après centrifugation, une analyse d'urine complète avec analyse des sédiments, ainsi que de l'imagerie diagnostique doivent être réalisés pour une détection précoce. En effet, la formation des lithiases urinaires de xanthines est irréversible car elles ne peuvent pas être dissoutes par une prise en charge médicale. De ce fait, un changement alimentaire avec une alimentation pauvre en purine, une réduction de la densité urinaire par l'augmentation de la consommation d'eau ou l'apport d'une alimentation humide et/ou une augmentation de la fréquence du monitoring peuvent être mis en place de manière préventive (Paltrinieri et al. 2016; Jesus et al. 2022).

Concernant l'évolution de la charge parasitaire, l'amélioration clinique est associée à une diminution lente et progressive des taux d'anticorps IgG et IgA (Solano-Gallego et al. 2009). Même si une réduction significative des titres en anticorps associée à une amélioration clinique peut être détectée dès 30 jours de traitement (Solano-Gallego et al. 2016), la plupart des chiens présentent une diminution significative 6 mois après le début du traitement. Une sérologie doit alors être répétée à ce moment-là dans le même laboratoire que la première, et le titre en anticorps attendu doit être diminué au moins de moitié. Une disparition complète des anticorps anti-leshmaniens est peu probable, principalement chez les chiens vivant dans des zones endémiques, mais le titre en anticorps devrait atteindre des valeurs compatibles avec une exposition correspondant à une valeur inférieure à quatre fois la valeur seuil du laboratoire. Certains chiens ne présentent pas de diminution des taux d'anticorps malgré une amélioration clinique. En revanche, une augmentation marquée du titre en anticorps doit être interprétée comme une rechute, surtout après l'arrêt du traitement

(Solano-Gallego et al. 2009; Paltrinieri et al. 2016). Idéalement, la présence de parasites devrait aussi être évalué par PCR quantitative sur moelle osseuse, rate ou nœuds lymphatique. Mais comme cette procédure est invasive, une sérologie quantitative et/ou une PCR quantitative sur sang est généralement préférée, malgré une moins bonne sensibilité de cette dernière sur sang. Une nette réduction des copies d'ADN de *Leishmania* après 3 à 6 mois de traitement est constatée ainsi qu'une disparition complète entre 6 et 12 mois (Paltrinieri et al. 2016).

En conclusion, pour suivre tous ces paramètres clinico-pathologiques, il est généralement recommandé d'effectuer une numération de formule complète, une analyse biochimique et une analyse d'urine, comprenant un RPCU chez les chiens protéinuriques lors des suivis. La fréquence de ces suivis varie d'un patient à l'autre mais sont habituellement fréquents au début du traitement, c'est-à-dire un mois après la mise en place du traitement puis tous les trois à quatre mois. Après un rétablissement clinique, les contrôles sont préconisés tous les six mois à un an (Solano-Gallego et al. 2009).

7 - Mesures préventives

Une prévention efficace de la leishmaniose est multimodale. D'une part, une limitation du contact entre les chiens et les phlébotomes est recherchée. Pour cela, les chiens vivant à zone d'enzootie doivent être gardés à l'intérieur, du crépuscule à l'aube, d'avril à novembre, et les micro-habitats où se situent les gîtes larvaires, comme des amoncellements de bois et de pierres, doivent être réduits à proximité de la maison ou du jardin. Des moustiquaires peuvent également être mises en place sur les fenêtres des habitations. D'autre part, l'utilisation d'insecticides environnementaux et de topiques ayant une activité avérée contre les phlébotomes permet d'avoir un effet anti-engorgement complémentaire (Solano-Gallego et al. 2009). La vaccination permettant de réduire le risque de développer une forme clinique de la leishmaniose, disponible depuis 2011 en Europe, peut également être ajouté à ces mesures préventives (Lamoureux et al. 2016).

7.1 Lutte anti-vectorielle

7.1.1 Traitement de l'environnement

Le traitement de l'environnement s'effectue en éliminant les micro-habitats additionné à une lutte chimique. Pour celle-ci, une pulvérisation d'insecticides à effet rémanent et répulsifs, à base de pyréthriinoïdes est recommandée dans les habitations ; ils peuvent notamment être vaporisés sur les tissus ou imprégnés dans les moustiquaires (Sharma, Singh 2008).

7.1.2 Antiparasitaires externes

L'utilisation d'antiparasitaires externes contenant des pyréthriinoïdes reste le moyen de prévention le plus efficace pour les chiens vivants dans les zones endémiques. Ils existent sous la forme de colliers ou de *spot-on* et sont les seuls exerçant un effet anti-engorgement et donc répulsif sur les phlébotomes (Lamoureux et al. 2016). Même les chiens séropositifs en bonne santé doivent être protégés avec des insecticides topiques car ils participent à l'infection des phlébotomes (Solano-Gallego et al. 2009). La liste des spécialités ayant une autorisation de mise sur le marché pour l'effet répulsif contre les phlébotomes est récapitulée dans le **Tableau 5**.

Les colliers imprégnés de deltaméthrine libèrent graduellement l'insecticide qui est ensuite distribué dans le tissu adipeux en une à deux semaines. Quant aux topiques, quelques jours sont nécessaires pour que l'insecticide se propage dans toute la couche cornée. L'application du collier ou du *spot-on* est conseillée respectivement deux semaines avant ou deux jours avant le séjour en zone endémique. La fréquence de renouvellement et l'application correcte des produits doivent être réalisées en suivant les instructions du fabricant. Les propriétaires doivent alors être correctement informés afin de mettre en place des insecticides appropriés tout au long de la période à risque (Solano-Gallego et al. 2009).

Tableau 5 : Antiparasitaires externes ayant une AMM vis-à-vis des phlébotomes disponibles en France

Nom spécialité	Principes actifs	Formulation	Durée d'action contre les phlébotomes
ADVANTIX®	Imidaclopride, Perméthrine	Spot-on	2 à 3 semaines
DELTATIC®	Deltaméthrine	Collier	5 mois
DOG-NET®	Perméthrine	Spot-on	8 jours
EFFITIX®	Perméthrine, Fipronil	Spot-on	4 semaines
FRONTLINE® TRI-ACT	Perméthrine, Fipronil	Spot-on	3 semaines
PERFIKAN®	Perméthrine, Fipronil	Spot-on	4 semaines
PERMETRIX®	Perméthrine, Imidaclopride	Spot-on	3 semaines
SYNERGIX®	Perméthrine, Fipronil	Spot-on	4 semaines
SCALIBOR®	Deltaméthrine	Collier	12 mois
SERESTO®	Imidaclopride, Fluméthrine	Collier	8 mois
VECTRA® 3D	Perméthrine, Dinotéfurane	Spot-on	1 mois

7.2 Vaccinations

La vaccination n'empêche pas l'infection mais vise à réduire le risque de développer une forme clinique de la maladie ainsi que le risque d'infection des phlébotomes lors des piqûres. En effet, le protocole vaccinal oriente la réponse immunitaire vers une réponse à dominance cellulaire (type Th1), permettant de contrôler l'infection (Lamoureux et al. 2016).

Aujourd'hui, seul le vaccin LETIFEND®, utilisant une protéine recombinante Q de *L. infantum*, est commercialisé en France. La primovaccination consiste à une injection après 6 mois d'âge suivi de rappels annuels. L'immunité est mise en place quatre semaines après la primovaccination. Un chien vacciné présente 9,8 fois moins de risques de développer des signes cliniques et 3,5 fois moins de risques d'être séropositif qu'un chien non vacciné. Une analyse sérologique pour le dépistage de la leishmaniose est préconisée avant de démarrer la vaccination. La vaccination n'est en

effet pas conseillée chez les chiens présentant une sérologie positive, qu'ils aient des signes cliniques ou non (Lamoureux et al. 2016).

Objectifs du travail de thèse : comme le montre la synthèse bibliographique, peu de données récentes sur la répartition géographique et la prévalence de la leishmaniose canine sont disponibles dans la littérature, notamment pour des régions historiquement non endémiques de France, comme la région sud-ouest et plus particulièrement la région toulousaine. Ainsi ce travail a eu pour objectif de recenser le nombre de cas cliniques de leishmaniose canine diagnostiqués dans un centre de référés comme le centre hospitalo-universitaire vétérinaire (CHUVAC) de l'ENVT au cours des dix dernières années ainsi que de dresser un profil clinique « type » de ces chiens.

PARTIE 2 : Etude rétrospective des cas de leishmaniose canine diagnostiqués entre 2010 et 2023 à l'ENVT

I - Matériel et méthode

1 - Acquisition des données du logiciel clientèle du CHUVAC, CLOVIS

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous avons utilisé la base de données issue du logiciel CLOVIS. Il s'agit d'un logiciel de gestion de la clientèle qui est utilisé pour la gestion des activités cliniques (comptes-rendus, résultats d'analyses, prescriptions médicales, ...) ainsi que pour la gestion financière au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire des Animaux de Compagnie (CHUVAC) de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT). Ce logiciel est également utilisé par la clinique des Nouveaux Animaux de Compagnie (NAC), de la faune sauvage et des équidés.

Les comptes-rendus de consultations et d'hospitalisations sont rédigés par des étudiants vétérinaires, entre leur 3^{ème} et 5^{ème} année de formation, ayant participé à la prise en charge de l'animal. Ils sont ensuite relus par un interne, puis validés par un clinicien (enseignant chercheur ou praticien hospitalier).

1.1 Définition de la population d'étude

1.1.1 Critères d'inclusion

Le recrutement des sujets s'est effectué sur les résultats des tests diagnostiques permettant de mettre en évidence une infection par le parasite *Leishmania infantum*, de manière directe ou indirecte, qui sont réalisés au sein du CHUVAC de l'ENVT. Si au moins un test étiologique était positif, le chien était inclus dans l'étude. Concernant les sérologies quantitatives, tout animal avec un titrage positif a été inclus dans l'étude, peu importe sa valeur dès lors qu'elle dépassait le seuil de positivité du laboratoire de diagnostic.

1.1.2 Critères d'exclusion

Tous les chiens ayant déjà été diagnostiqués et traités contre la leishmaniose par un autre vétérinaire ont été exclus de l'étude.

1.2 Pré-sélection des données

Dans un premier temps, les données ont été extraites de ce logiciel et traitées avec le logiciel R pour obtenir un fichier Excel[®] de 2855 lignes correspondant à des consultations dans lesquelles le mot « leish » et/ou le mot « Leish » sont présents dans la colonne « diagno » et/ou « CR » et/ou « conclu » sur une période allant de janvier 2001 à mai 2023.

Les colonnes constituant ce fichier Excel[®] sont les suivantes :

- *ID_consult* : identifiant de consultation correspondant au numéro de la consultation, une valeur unique ;
- *Date_consult* : date de la consultation ;
- *Motif_consult* : motif de la consultation, service dans lequel l'animal est attendu pour la consultation ;
- *ID_dossier* : identifiant de dossier correspondant au numéro du dossier de l'animal, une valeur unique par animal ;
- *Nom_anim* : nom de l'animal ;
- *Especes* : espèce de l'animal (chien, chat, cheval, ...) ;
- *Race* : race de l'animal ;
- *Sexe* : mâle ou femelle ;
- *Sterilise* : stérilisé ou non ;
- *Date_naiss* : date de naissance de l'animal, parfois approximative ;
- *Tatouage* : numéro de tatouage ;
- *Puce* : numéro de puce électronique ;
- *Decede* : animal décédé ou non ;
- *Date_deces* : date de décès de l'animal le cas échéant ;

- *Cause_deces* : cause de décès de l'animal le cas échéant ;
- *CP_proprio* : code postal du domicile du propriétaire ;
- *Ville_proprio* : ville où se situe le domicile du propriétaire ;
- *Email* : adresse email du propriétaire ;
- *diagno* : diagnostic à l'issu de la consultation ;
- *Nb_unite* : nombre de services au sein du CHUVAC par lequel l'animal est passé lors de la consultation ;
- *Consultants* : noms des consultants présents lors de la consultation ;
- *Unités* : nom du ou des service(s) au sein du CHUVAC par le(s)quel(s) l'animal est passé lors de la consultation ;
- *Nb_consultants* : nombre de consultants présents lors de la consultation ;
- *Nb_etudiants* : nombre d'étudiants présents lors de la consultation ;
- *Etudiants* : nom des étudiants présents lors de la consultation ;
- *Annees* : année d'étude des étudiants présents ;
- *Anamnese* : commémoratifs, anamnèse et motifs de consultation ;
- *CR* : compte rendu de l'examen clinique et des examens complémentaires réalisés sur l'animal lors de la consultation ;
- *conclu* : conclusion de la consultation, résumant les actes réalisés ou non, répondant ou non au motif de consultation initial et décrivant le traitement mis en place ou non ;
- *Trt_prop* : traitement proposé et prescrit lors de la consultation ;
- *redacteur* : nom des rédacteurs du compte-rendu de la consultation, étudiants vétérinaires entre leur 3^{ème} et 5^{ème} année d'étude;
- *valide_par* : nom du clinicien ou enseignant chercheur ayant validé le compte-rendu ;
- *Hospitalisation* : animal hospitalisé suite à la consultation ou non ;
- *Dbt_hospit* : date de début d'hospitalisation le cas échéant ;
- *Fin_hospit* : date de fin d'hospitalisation le cas échant.

2 - Traitement préalable des données sélectionnées

2.1 Tri et sélection des données

La pré-sélection des données sur CLOVIS a permis de recenser 2855 consultations dans le fichier Excel®, dans lesquelles la leishmaniose apparaissait dans le diagnostic différentiel ou lorsqu'une vaccination ou une prévention contre la leishmaniose était mentionnée.

Pour répondre à l'intitulé du sujet, seules les consultations canines ont été sélectionnées. Les consultations concernant des chats, des chevaux ou des animaux de la faune sauvage ont donc été retirées. Une « fausse fiche » a également été effacée. Au total, 25 consultations ont été supprimées.

La période a été réduite pour sélectionner les consultations s'étant déroulées entre janvier 2010 et mai 2023, aboutissant à 2230 lignes de consultations.

Un tri manuel a ensuite été réalisé pour sélectionner les consultations dans lesquelles un diagnostic étiologique a été réalisé au CHUVAC de l'ENVT. Pour ce faire, les tests diagnostiques de la leishmaniose et leurs résultats ont été cherchés dans la partie « compte-rendu » et « conclusion » de chaque consultation. 985 consultations n'ont pas abouti à un examen complémentaire étiologique de la leishmaniose. La non-réalisation d'un test diagnostique s'explique par plusieurs raisons, comme un autre diagnostic posé, l'exploration chez le vétérinaire traitant avant ou après la consultation, le prix du test, la vaccination, le conseil d'un traitement antiparasitaire externe répulsif pour les phlébotomes. Etant donné que les comptes-rendus étaient souvent incomplets, les recherches de « résultats en attente » ont été réalisées directement sur le logiciel CLOVIS dans l'onglet « Paramédical » où toutes les analyses envoyées dans des laboratoires extérieurs sont censées être enregistrées. Malgré tout cela, les résultats n'ont pas été trouvés dans 23,7% des consultations durant lesquelles un test diagnostique a été réalisé. Après ce tri, 193 lignes de consultations pendant lesquelles un test diagnostique est revenu positif pour la leishmaniose ont été retenues.

Deux catégories sont alors apparues, les chiens ayant été diagnostiqués et suivis par un ou plusieurs services du CHUVAC d'une part et les chiens ayant été diagnostiqués et traités par un autre vétérinaire puis suivis par un ou plusieurs services du CHUVAC *a posteriori* d'une autre part. Nous avons retenu uniquement la première catégorie pour faire partie de l'étude. De ce fait, tous les chiens ayant déjà reçu un

traitement contre la leishmaniose chez un autre vétérinaire ont été exclus de l'étude. Il en résulte 175 lignes de consultations à considérer.

Enfin, une seule consultation par animal a été conservée pour les animaux étant venus à plusieurs consultations pendant cette période et ayant donc eu plusieurs tests diagnostiques positifs. La consultation retenue est la première qui a permis de mettre en évidence une infection par le parasite *L. infantum*, récente ou ancienne.

Après ces phases de tri, un total de 109 chiens a été sélectionnés comme ayant été diagnostiqués leishmaniens au CHUVAC de l'ENVT sur la période choisie pour notre étude.

La démarche explicitée ci-dessus est synthétisée en **Figure 23**.

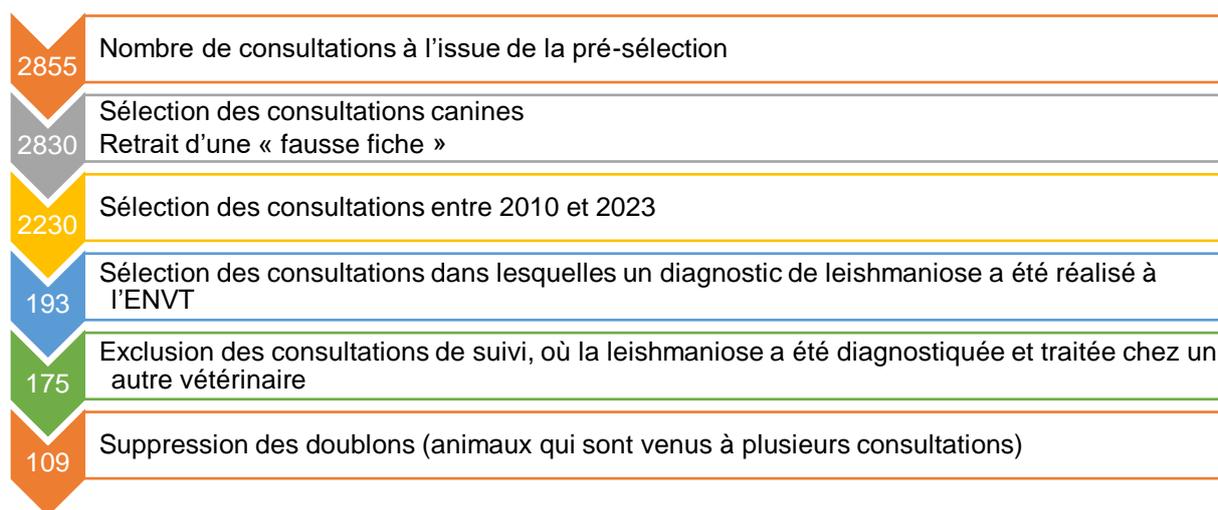


Figure 23 : Diagramme de flux

2.2 Variables étudiées

2.2.1 Anamnèse et commémoratifs

Les sujets ont été divisés en deux catégories en fonction du sexe : « mâle » ou « femelle ». Et en sous-catégories en fonction du statut sexuel : « entier » ou « stérilisé ».

Ils ont ensuite été répartis dans différentes catégories d'âge : les chiens de moins de 1 an, ceux entre 1 et 6 ans et ceux de plus de 6 ans, respectivement considérés comme des chiots, des adultes et des seniors.

Ensuite, selon les commémoratifs recensés dans les comptes-rendus, les chiens ont été classés dans des catégories en fonction du passage (qu'il s'agisse d'un séjour ou d'une origine) dans une zone considérée endémique, c'est-à-dire en Espagne, au Portugal, en Italie ou dans le pourtour méditerranéen français. Les « cas importés » sont les chiens vivants ou ayant voyagés dans une zone endémique au cours de sa vie. Les « cas autochtones » sont les chiens n'ayant jamais voyagé dans une zone endémique d'après les commémoratifs. Les chiens pour lesquels nous n'avons aucun renseignement sont classés dans « historique de voyage inconnu ».

Les localisations géographiques des lieux de résidence de chaque chien ont été reportés sur une carte à l'aide du logiciel Mapcreator® grâce au code postal et à la ville des propriétaires. Une répartition géographique des « cas autochtones » a aussi été réalisée avec ce logiciel.

2.2.2 Service du CHUVAC consulté

Selon le motif de consultation initial, un rendez-vous a été pris dans le service approprié du CHUVAC. Les services suivants ont été concernés par les chiens de notre étude :

- Dermatologie : prise en charge des affections cutanées ou auriculaires ;
- Médecine interne : animaux présentés pour une maladie complexe, systémique et/ou chronique englobant plusieurs sous-spécialités vétérinaires comme la gastro-entérologie, l'endocrinologie, la neurologie, l'uro-néphrologie, ... ;
- Chirurgie : animaux présentés pour des affections ostéoarticulaires ;
- Urgences et soins intensifs : prise en charge d'animaux dont l'état général s'est dégradé brutalement et/ou dont le pronostic vital est engagé ;
- Médecine générale : animaux présentés pour une affection non chronique, c'est-à-dire évoluant depuis moins de 15 jours, pour laquelle aucun vétérinaire n'a été consulté auparavant et ne nécessitant pas de prise en charge spécialisée ou d'urgence ;
- Ophtalmologie : prise en charge des affections oculaires ;
- Cancérologie : prise en charge thérapeutique des cancers.

Le service consulté au sein du CHUVAC lors du diagnostic de la leishmaniose reflète donc le motif de consultation initial.

2.2.3 Présentations cliniques à l'admission

Tous les signes cliniques ont été renseignés à partir de l'anamnèse, de l'examen clinique initial de l'animal et des examens complémentaires réalisés avant la mise en place du traitement le cas échéant. Les signes cliniques observés dans les cas de notre étude ont été regroupés dans les catégories suivantes :

- Signes généraux : modification du caractère (moins joueur, apathique, léthargique), amyotrophie muscles temporaux et crotaphites (mâchoire), amaigrissement, cachexie, polyphagie ou anorexie, poly-adénomégalie périphérique non douloureuse, splénomégalie, hyperthermie, muqueuses pâles, épistaxis, polyuro-polydipsie, vomissements, diarrhée ;
- Signes cutanéomuqueux : dermatite exfoliative, ulcéreuse, nodulaire, proliférative ou papuleuse, onychogryphose, furfur leishmanien (squamosis important avec des squames brillantes de grande taille), hyperkératose digitale et/ou nasale ;
- Atteinte rénale : insuffisance rénale chronique, syndrome néphrotique ;
- Signes oculaires : blépharite, conjonctivite, kératite ou kérato-conjonctivite parfois sèche, uvéite antérieure, chorioretinite ;
- Troubles ostéoarticulaires : polyarthrite érosive ou non, se traduisant par une boiterie et des articulations gonflées, ostéomyélite ;
- Troubles digestifs : hépatite chronique, colites chroniques, entérites chroniques ;
- Troubles cardio-pulmonaires : myocardite, péricardite fibrineuse, pneumonie ;
- Troubles vasculaires : vascularite systémique, thrombo-embolie artérielle, syndrome d'hyperviscosité sanguine ;
- Signes neurologiques secondaires à une méningo-encéphalite : cervicalgie, paraplégie, perte de conscience, convulsions ;
- Troubles génitaux mâles : orchite, épididymite, prostatite chronique, balanoposthite, inflammation granulomateuse du pénis.

Si le chien présente un des signes cliniques, ou une affection, répertorié dans une des catégories, il est coché « Vrai » pour cette catégorie.

2.2.4 Anomalies des examens de laboratoire

Les anomalies de la numération de formule sanguine, de l'analyse biochimique et de l'analyse d'urine ont été notées « Vrai » si au moins une de leurs conditions respectives était vérifiée :

- Numération de formule sanguine : anémie régénérative ou non régénérative normochrome normocytaire (hématocrite inférieur à 35%, globules rouges inférieurs à $5,2 \times 10^{12}/L$), leucocytose ou leucopénie, monocytose, thrombocytopénie ;
- Analyse biochimique : hyperprotéïnémie supérieure à 66 g/L, hypoalbuminémie inférieure à 23 g/L, rapport albumine/globuline inférieur à 0,8, hyper-urémie supérieure à 10,9 mmol/L et hyper-créatininémie supérieure à 133 $\mu\text{mol}/L$;
- Analyse d'urine : protéinurie sur la bandelette urinaire, glucosurie sans hyperglycémie, RPCU supérieur à 0,5.

De plus, les valeurs de l'hématocrite, de la numération des globules rouges, de la créatininémie, de l'urémie, de la protidémie, de l'albuminémie ainsi que du RPCU ont été renseignées pour chaque animal quand les analyses ont été réalisées le jour de la consultation ou à la consultation suivante avant la mise en place du traitement.

2.2.5 Tests diagnostiques utilisés à l'ENVT

Le diagnostic étiologique a été réalisé grâce à des tests directs et indirects.

Les tests directs utilisés sont la cytologie et l'histologie qui ont été analysés au laboratoire de l'ENVT, ainsi que la PCR envoyée, généralement, au laboratoire SCANELIS. Les matrices sélectionnées pour ces examens sont des ponctions ou biopsies de nœuds lymphatiques, des biopsies cutanées, des ponctions de masses cutanées, des ponctions de liquide synovial, du sang EDTA, des biopsies de foie et de rate, des biopsies de moelle osseuse et une ponction de liquide cérébro-spinal. Ces matrices ont été choisies en adéquation avec les signes cliniques que présentait l'animal au moment de la consultation.

Pour les tests indirects, la sérologie par immunofluorescence indirecte (IFI), étant la méthode de référence, a été la plus utilisée. Un test ELISA et un test immuno-

chromatographique (Speed Leish®) ont également été utilisés. Les sérologies IFI ont été réalisées au laboratoire VEBIO, le test ELISA au laboratoire IDEXX alors que le test immuno-chromatographique est réalisé directement au chevet du patient, pendant la consultation.

Les chiens ont été classés selon le ou les premiers(s) test(s) diagnostique(s) utilisé(s) lors de la consultation initiale. Un deuxième test diagnostique a été réalisé à la consultation suivante selon les résultats des premiers tests pour affirmer ou infirmer l'infection par le parasite *L. infantum*.

2.3 Description de la base de données finale

La base de données finale comprend donc les 109 chiens ayant eu un résultat positif sur un test étiologique de la leishmaniose ainsi que leurs caractéristiques individuelles, c'est-à-dire l'anamnèse, les commémoratifs, les services consultés, les signes cliniques, les anomalies des examens complémentaires et les tests étiologiques réalisés.

Cette base de données comprend alors tous les chiens ayant rencontrés au moins une fois au cours de leur vie le parasite *L. infantum*. De ce fait, les signes cliniques présents lors de la consultation peuvent donc être attribués à la leishmaniose, mais dans certains cas ils sont alloués à une autre maladie si le titre en anticorps est faible par exemple.

Cinq chiens faisant partis de cette étude ne présentaient pas de signes cliniques pathognomoniques la leishmaniose mais leur dépistage s'est révélé positif. Les raisons du dépistage sont diverses : la présence de la forme clinique de la leishmaniose chez le propriétaire, la découverte fortuite d'une thrombopénie ou d'une protéinurie lors de la participation à une étude, le partage des lieux de vie avec un autre chien leishmanien et l'adoption d'un chien en Espagne.

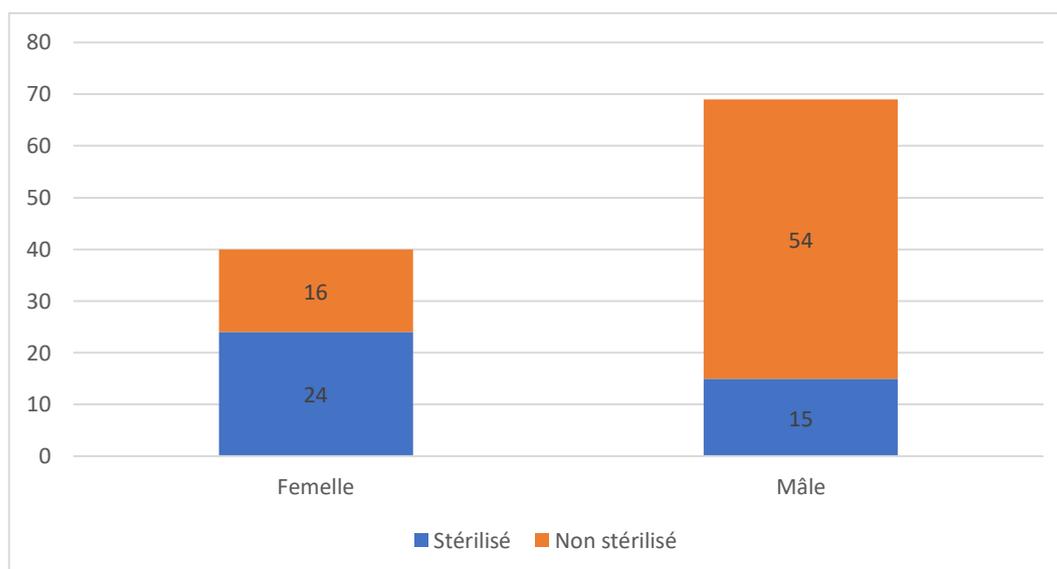
II - Résultats

1 - Description de la population canine sélectionnée

1.1 Répartition selon le sexe et le statut stérilisé

Parmi les 109 chiens inclus dans l'étude, 40 sont des femelles, soit 36,7%, et 69 sont des mâles, soit 63,3%. Le sex-ratio, défini comme étant le nombre de mâle sur le nombre de femelle, est de 1,73. Cela signifie qu'il y a 173 mâles pour 100 femelles.

Concernant le statut physiologique, 60% des femelles et seulement 21,7% des mâles sont stérilisés (**Graphique 2**).



Graphique 2 : Statut physiologique (stérilisé ou non) selon le sexe (n = 109)

1.2 Répartition selon la race

23% des chiens sélectionnés dans l'étude sont des chiens croisés. Parmi les chiens de races, les races majoritairement représentées sont le Galgo Espagnol, le Cavalier King Charles, le Bouvier Bernois, le Boxer et le Labrador (**Tableau 6**).

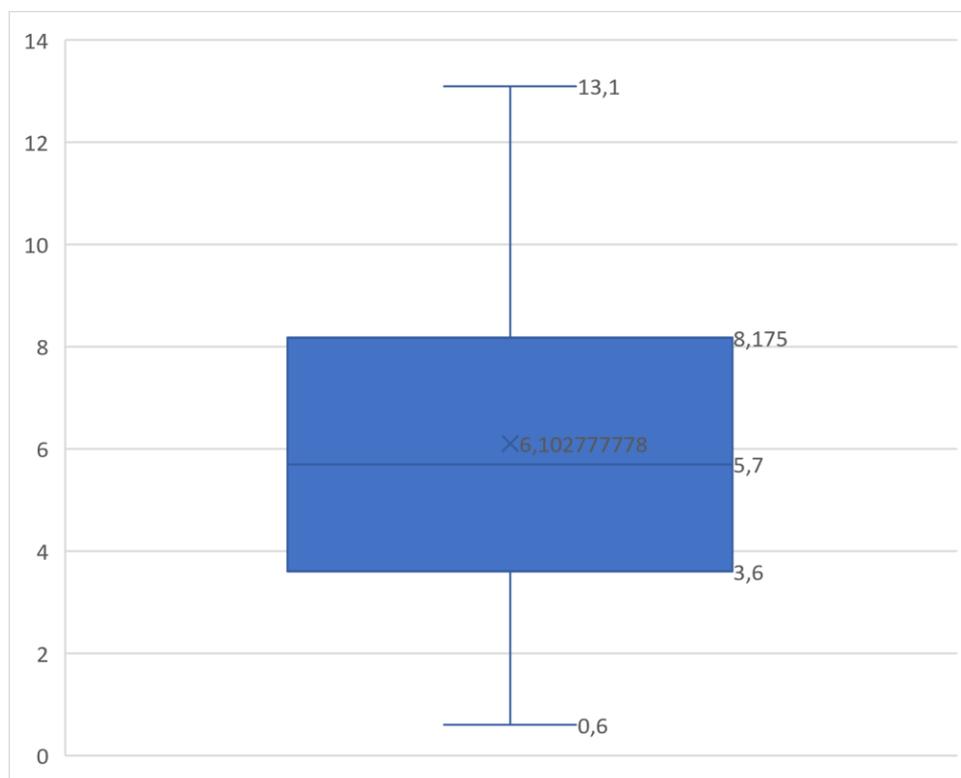
Tableau 6 : Effectifs des races représentées dans l'étude

Races	Effectifs (%)
Croisé	25 (22,9%)
Galgo Espagnol	5 (4,6%)

Cavalier King Charles	4 (3,7%)
Bouvier Bernois	4 (3,7%)
Boxer	4 (3,7%)
Labrador	4 (3,7%)
Berger Allemand	3 (2,8%)
Beagle	3 (2,8%)
Berger Belge Malinois	3 (2,8%)
American Staffordshire Terrier	3 (2,8%)
Border Collie	3 (2,8%)
Bouledogue Français	3 (2,8%)
Braque Allemand	3 (2,8%)
Shar-Pei	2 (1,8%)
Jack Russell Terrier	2 (1,8%)
Golden Retriever	2 (1,8%)
Lévrier d'Italie	2 (1,8%)
West Highland White Terrier	2 (1,8%)
Epagneul breton	2 (1,8%)
Bulldog Anglais	2 (1,8%)
Setter anglais	2 (1,8%)
Lhasa Apso	1 (0,9%)
Bichon Maltais	1 (0,9%)
Bouvier des Flandres	1 (0,9%)
Berger Belge Groenendael	1 (0,9%)
Lévrier	1 (0,9%)
Ariégeois	1 (0,9%)
Mastiff	1 (0,9%)
Dogue argentin	1 (0,9%)
Husky Sibérien	1 (0,9%)
Braque Hongrois	1 (0,9%)
Bouvier de l'Alentejo	1 (0,9%)
Fox Terrier	1 (0,9%)
Schnauzer moyen	1 (0,9%)
Bruno du Jura	1 (0,9%)
Malinois	1 (0,9%)
Bull Terrier	1 (0,9%)
Pointer Anglais	1 (0,9%)
Griffon	1 (0,9%)
Griffon Nivernais	1 (0,9%)
Chien de chasse Portuguais	1 (0,9%)
Spitz	1 (0,9%)
Cocker Anglais	1 (0,9%)
Whippet	1 (0,9%)
Yorkshire Terrier	1 (0,9%)
Akita Inu	1 (0,9%)
Dalmatien	1 (0,9%)

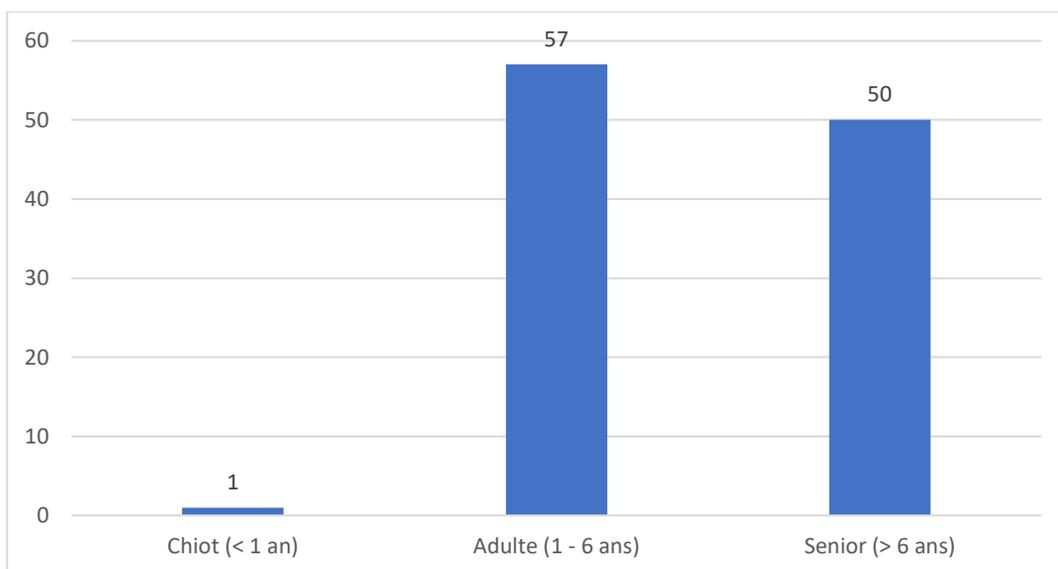
1.3 Répartition selon l'âge au moment du diagnostic

Les chiens de l'étude ont entre 0,6 et 13,1 ans avec une moyenne de 6,1 ans. La médiane est de 5,7 ans avec un premier quartile de 3,6 ans et un troisième quartile de 8,2 ans (**Graphique 3**).



Graphique 3 : Boîte à moustache représentant les âges des chiens inclus dans l'étude (n = 109)

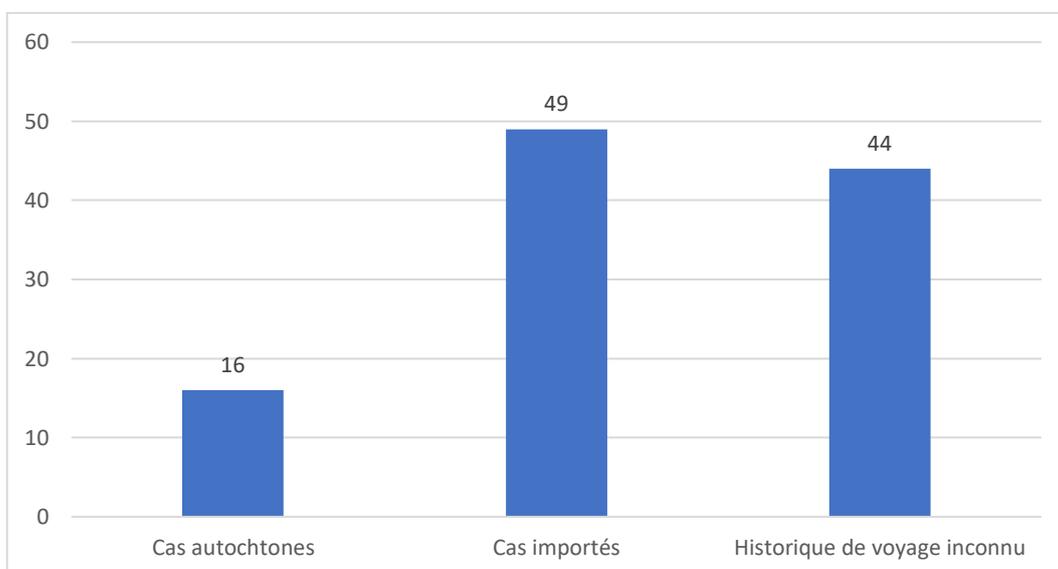
La majorité des chiens sont des adultes et des seniors, sans différence significative d'effectif entre ces deux catégories. Seulement un chiot (7,5 mois) a été inclus dans cette étude (**Graphique 4**).



Graphique 4 : Répartition selon le stade physiologique de vie de l'animal (n = 109)

1.4 Répartition selon le passage dans une zone endémique

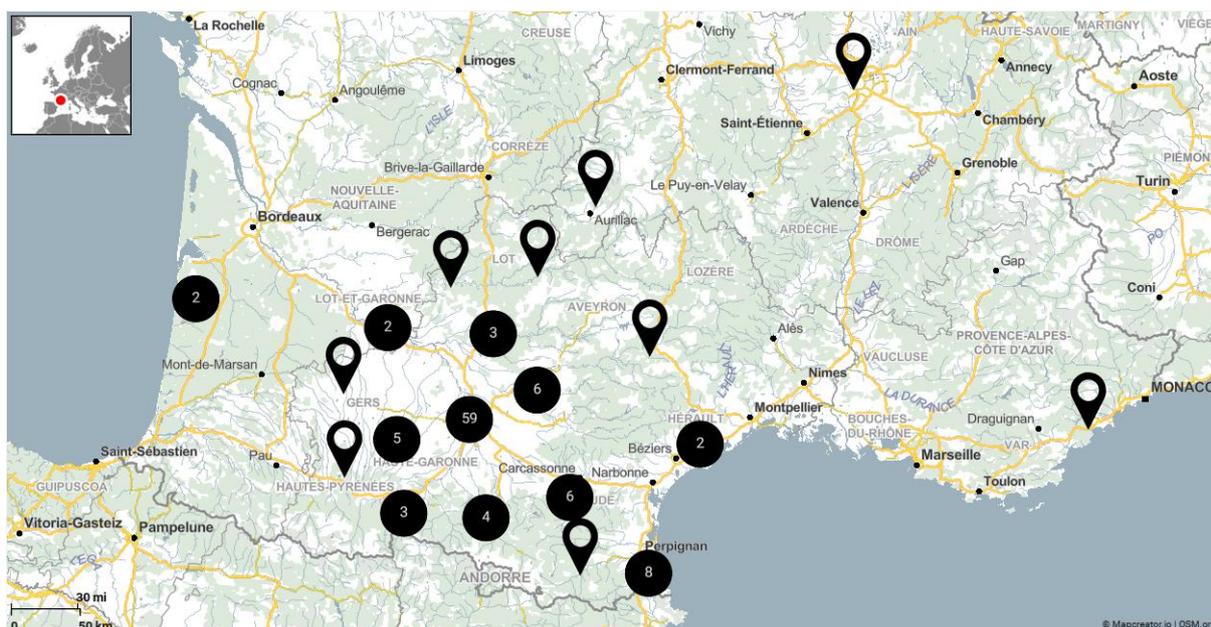
Les chiens vivants ou ayant voyagés en zone endémique représentent 45% des chiens de l'étude. Seulement 15%, soit 16 chiens, n'ont jamais voyagé dans une zone considérée comme endémique. Mais l'historique de voyage est inconnu pour 40% des chiens (**Graphique 5**).



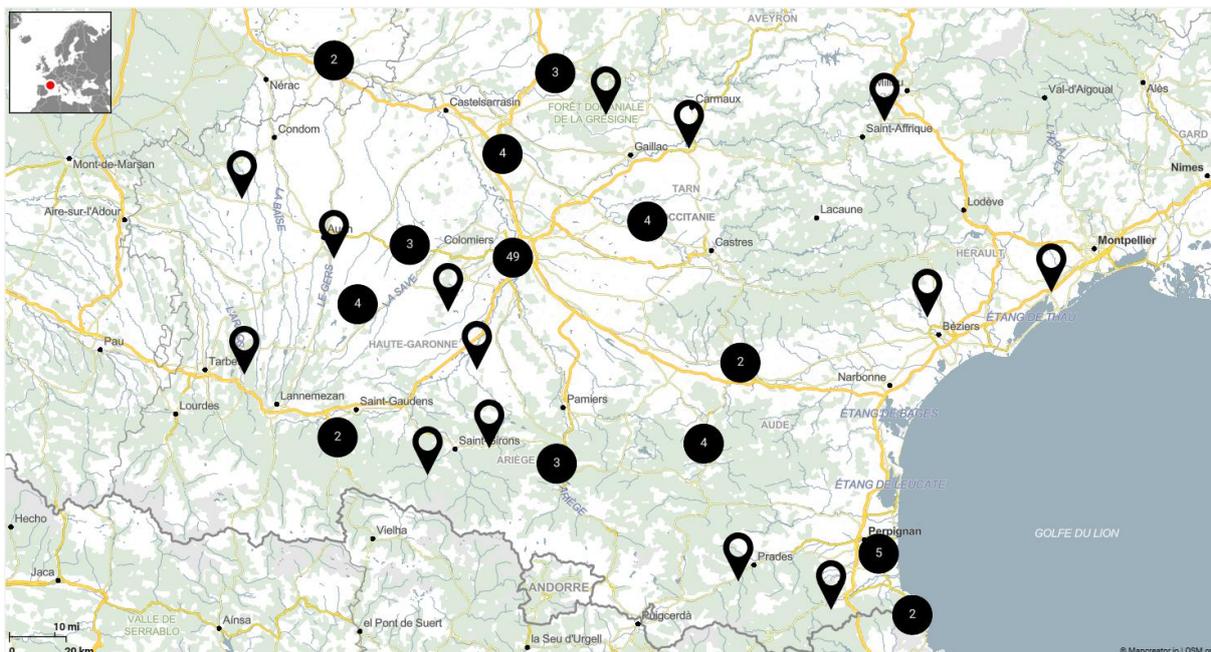
Graphique 5 : Nombre de chiens vivant ou ayant voyagé dans une zone endémique ou non (n = 109)

1.5 Répartition géographique

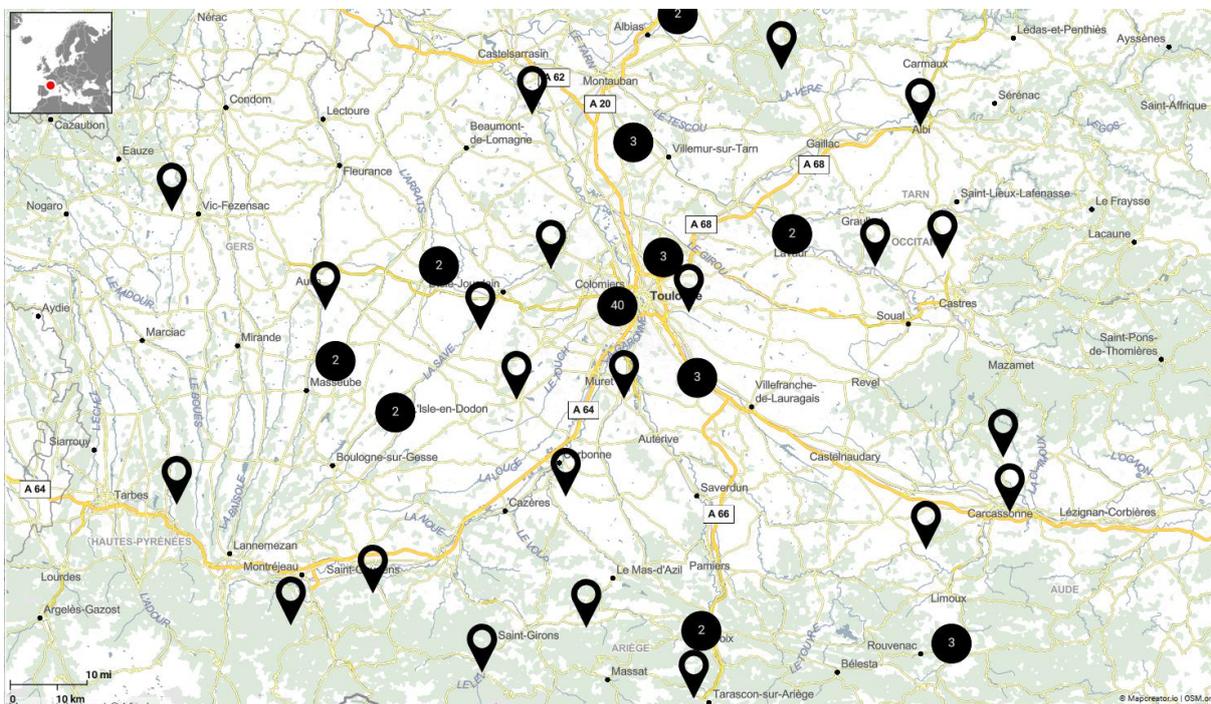
La majorité des chiens inclus dans cette étude vivent dans la région du Sud-Ouest de la France, mais un cas est décrit dans la région lyonnaise et un cas dans la région niçoise (**Carte 6**). Les cas sont principalement présents en Occitanie et plus précisément dans les départements de Haute-Garonne, des Pyrénées-Orientales, du Gers, du Tarn, du Tarn-et-Garonne et de l'Aude (**Carte 7, Carte 8**).



Carte 6 : Répartition géographique selon l'adresse des propriétaires des chiens inclus dans l'étude, établie grâce au logiciel Mapcreator® (n = 109)



Carte 7 : Répartition géographique des chiens inclus dans l'étude, centrée sur le Sud-Ouest, établie grâce au logiciel Mapcreator®



Carte 8 : Répartition géographique des chiens inclus dans l'étude, centrée sur la région toulousaine, établie grâce au logiciel Mapcreator®

Concernant les 16 cas autochtones, c'est-à-dire les chiens n'ayant jamais voyagé dans une région considérée endémique, leur localisation est essentiellement dans la région toulousaine, avec un cas dans les Landes, un cas dans le Lot-et-Garonne et deux cas dans le Gers (**Carte 9**).



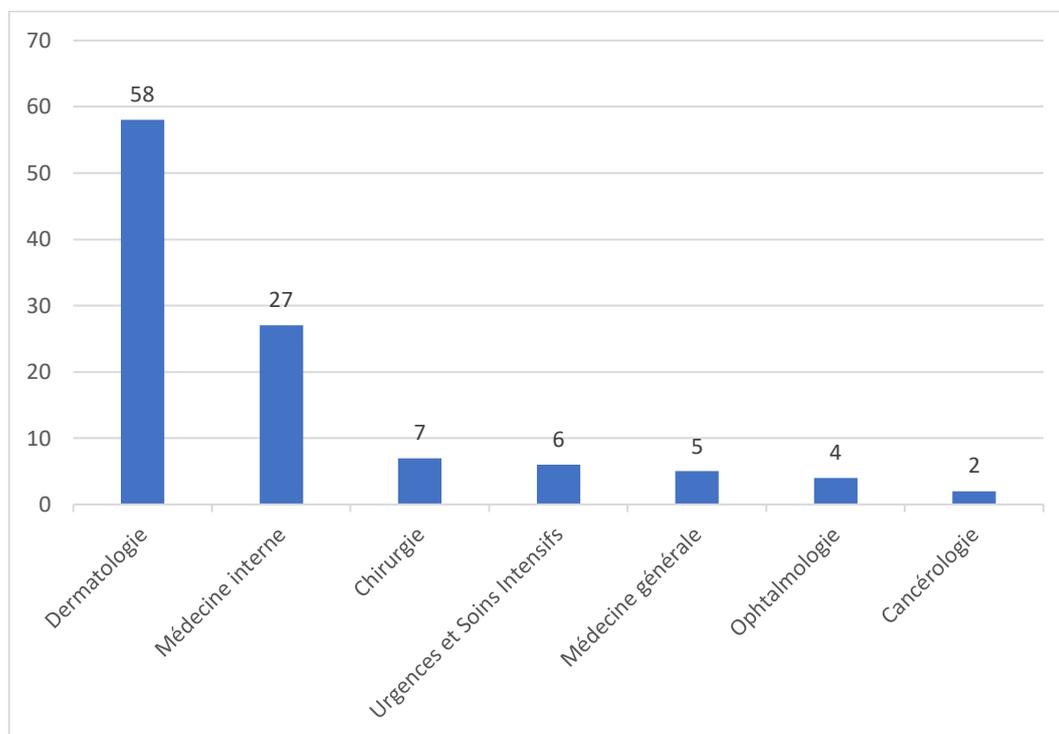
Carte 9 : Répartition géographique des chiens n'ayant pas voyagé dans une zone endémique, établie grâce au logiciel Mapcreator® (n = 16)

En résumé, les principales caractéristiques de chiens testés positifs à la leishmaniose à l'ENVN sont :

- Chiens mâles (63,3%) non stérilisés (78,3%)
- Races pures (77,1%), dont le Galgo Espagnol, le Cavalier King Charles, le Bouvier Bernois, le Boxer et le Labrador sont majoritairement représentés
- Adultes (52,3%) et séniors (45,8%), d'âge moyen de 6 ans
- Vivant en région Occitanie et principalement dans le département de la Haute-Garonne (50,5%)
- Dont 15% n'ont jamais voyagé dans une zone considérée endémique, étant localisés en Haute-Garonne (75%), dans le Gers (12,5%), dans le Lot-et-Garonne (6,3%) et dans les Landes (6,3%)

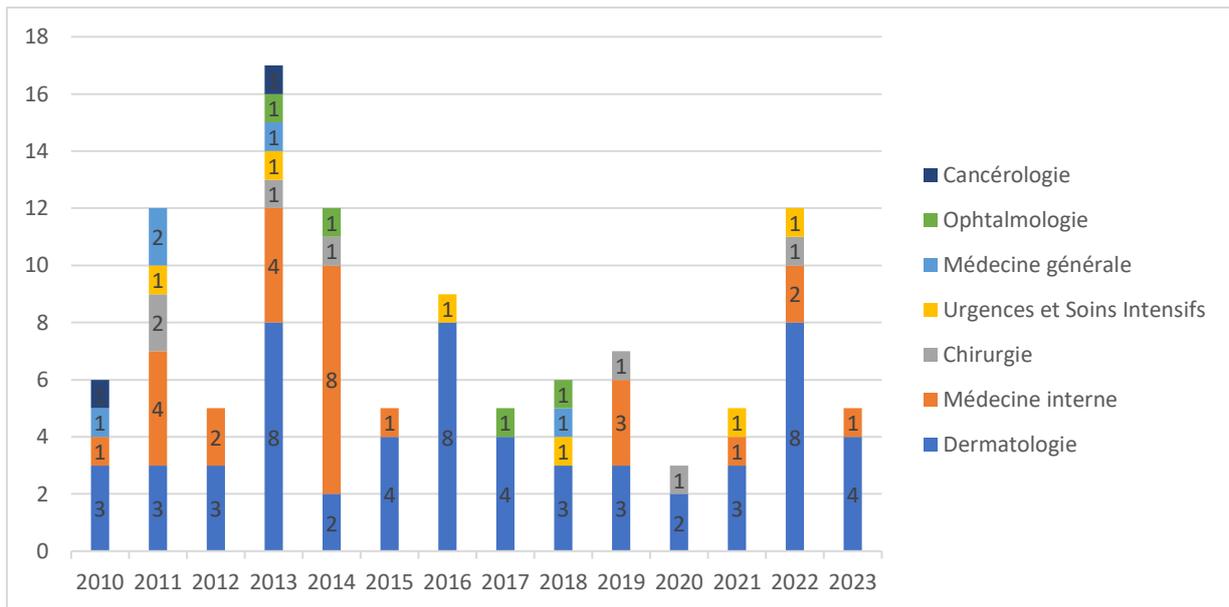
2 - Motifs de consultation

Les services du CHUVAC ayant été consultés lors du diagnostic de leishmaniose à l'ENVT sont récapitulés dans le **Graphique 6**. La plupart des diagnostics ont été réalisés par les services de dermatologie (53,2%) et de médecine interne (24,8%).



Graphique 6 : Nombre de diagnostic de leishmaniose par service du CHUVAC (n = 109)

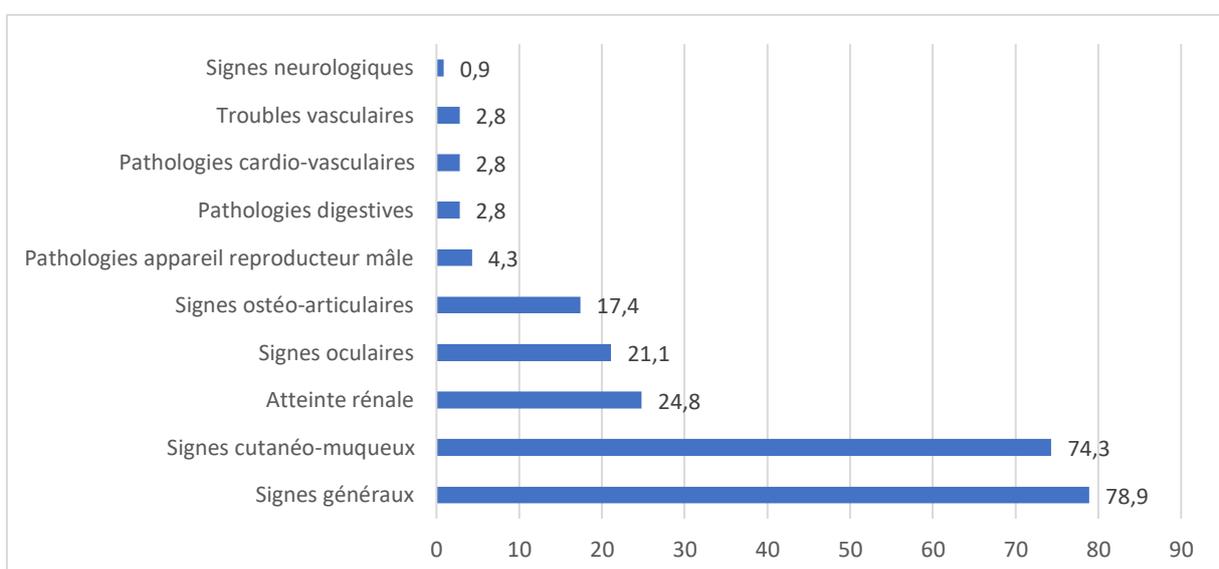
Le nombre de diagnostics par an au sein du CHUVAC de l'ENVT oscille entre 3 et 17. Le service de dermatologie diagnostique des cas de leishmaniose chaque année (entre 2 et 8 cas/an), alors que les autres services identifient des cas de manière plus exceptionnelle. Un pic de nouveaux cas est observé en 2022 (12 cas) alors qu'entre 2017 et 2023, le nombre de diagnostic oscille entre 5 et 7 cas par an (**Graphique 7**).



Graphique 7 : Nombre de diagnostic par an et répartition selon le service du CHUVAC consulté (n = 109)

3 - Présentations cliniques à l'admission

Les signes cliniques lors de l'examen clinique ayant permis de diagnostiquer la leishmaniose ainsi que les pathologies ayant été détectées lors de cette consultation ont été recensées dans le **Graphique 8** et le **Tableau 7**. Les signes généraux et cutanéomuqueux sont les plus représentés.



Graphique 8 : Pourcentage des types d'anomalies retrouvées à l'examen clinique initial chez les 109 chiens inclus dans l'étude

Aucun chien ne présentait que des signes ophtalmologiques (ces signes étaient associés à d'autres), et 17,4% des chiens ayant une atteinte oculaire présentaient une uvéite.

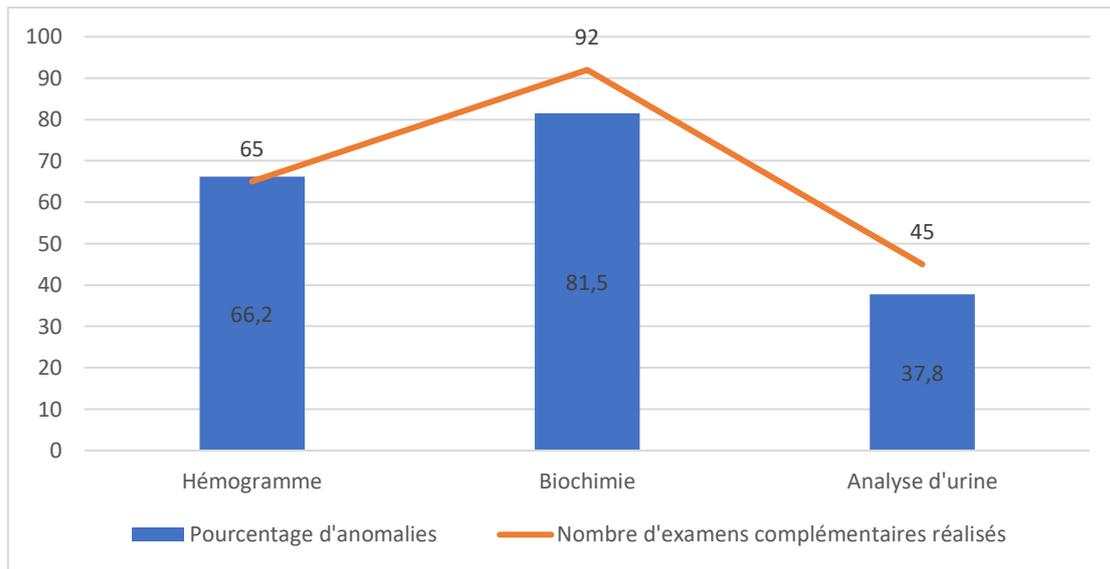
Tableau 7 : Pourcentage des signes cliniques spécifiques retrouvés à l'examen clinique des 109 chiens inclus dans l'étude

Anomalie à l'examen clinique	Pourcentage de chiens symptomatiques
Adénomégalie	61,5%
Splénomégalie	11,9%
Epistaxis	6,4%
Onychogryphose	11%
Uvéite	3,7%

4 - Anomalies biologiques

Les chiens ayant eu des examens complémentaires anormaux lors de la consultation ou dans le mois suivant la consultation ayant permis le diagnostic sont représentés dans le **Graphique 9**.

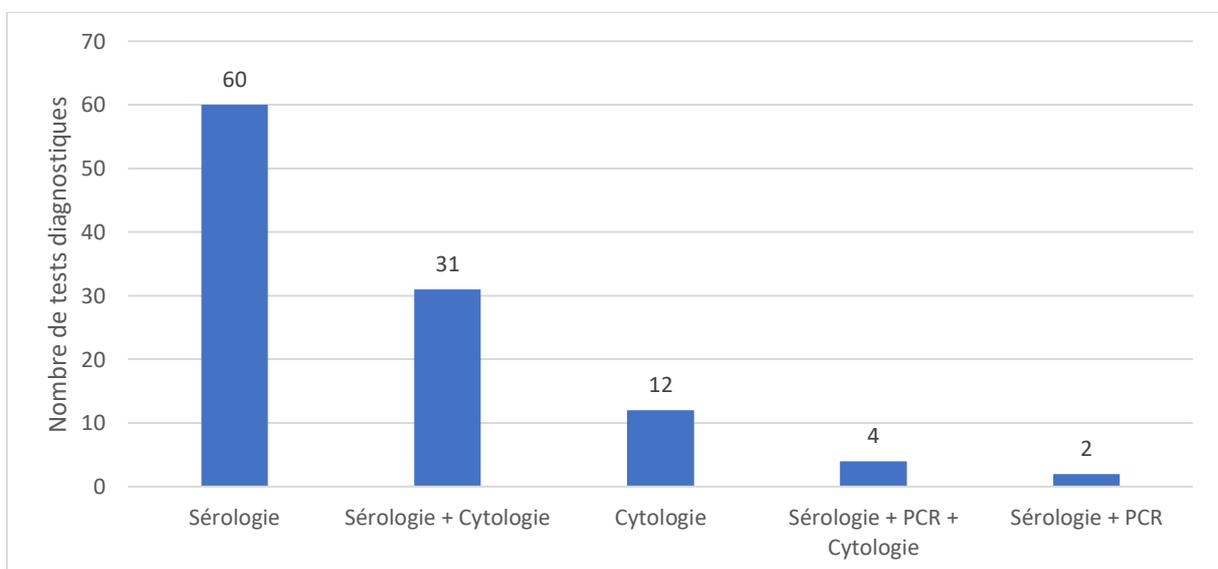
Les principales anomalies de l'hémogramme sont une anémie et une leucocytose. Concernant la biochimie, 75% des chiens présentent une hyperprotéïnémie, 9% une hypoalbuminémie et 74% un rapport albumine/globuline bas. Seulement 10% présentent une créatininémie élevée et 9% une urémie élevée. Parmi les chiens chez lesquels un RCPU a été réalisé, 72% présentent une protéinurie, avec un résultat supérieur à 0,5.



Graphique 9 : Pourcentage d'examens complémentaires anormaux et nombre d'examens complémentaires réalisés

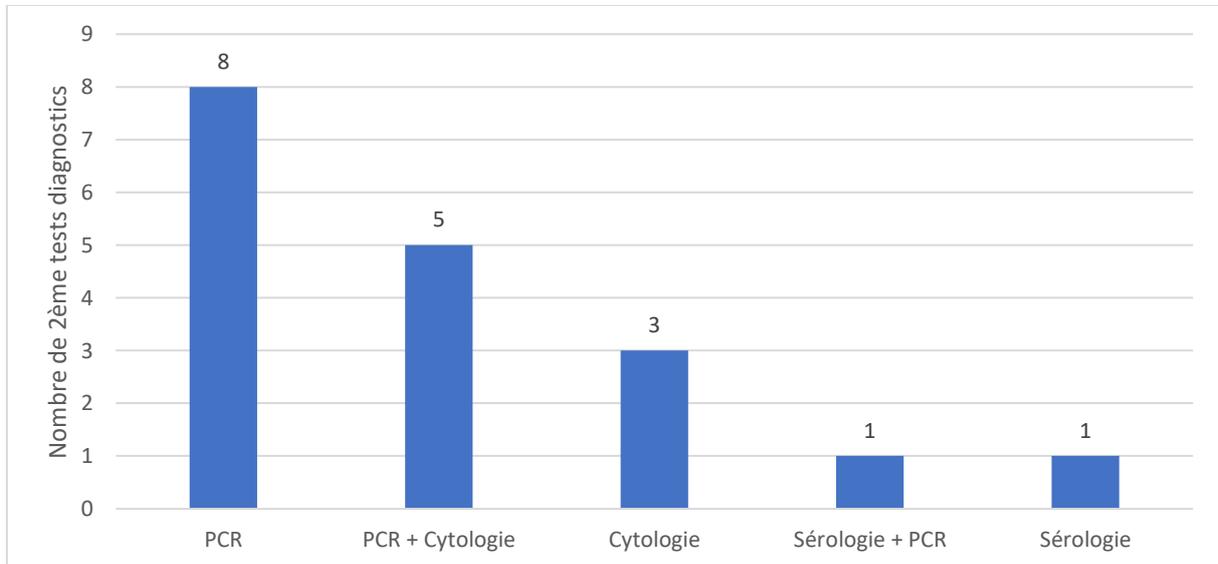
5 - Méthodes de diagnostic utilisées

La sérologie (qualitative et/ou quantitative) est le premier test diagnostique utilisé dans 55% des cas. Elle est couplée à une cytologie dans 28% des cas (**Graphique 10**). La sérologie utilisée majoritairement est l'IFI, dans 98% des cas. Seulement une sérologie ELISA quantitative et une immunochromatographie ont été réalisées.



Graphique 10 : Premier(s) test(s) utilisé(s) pour diagnostiquer la leishmaniose (n = 109)

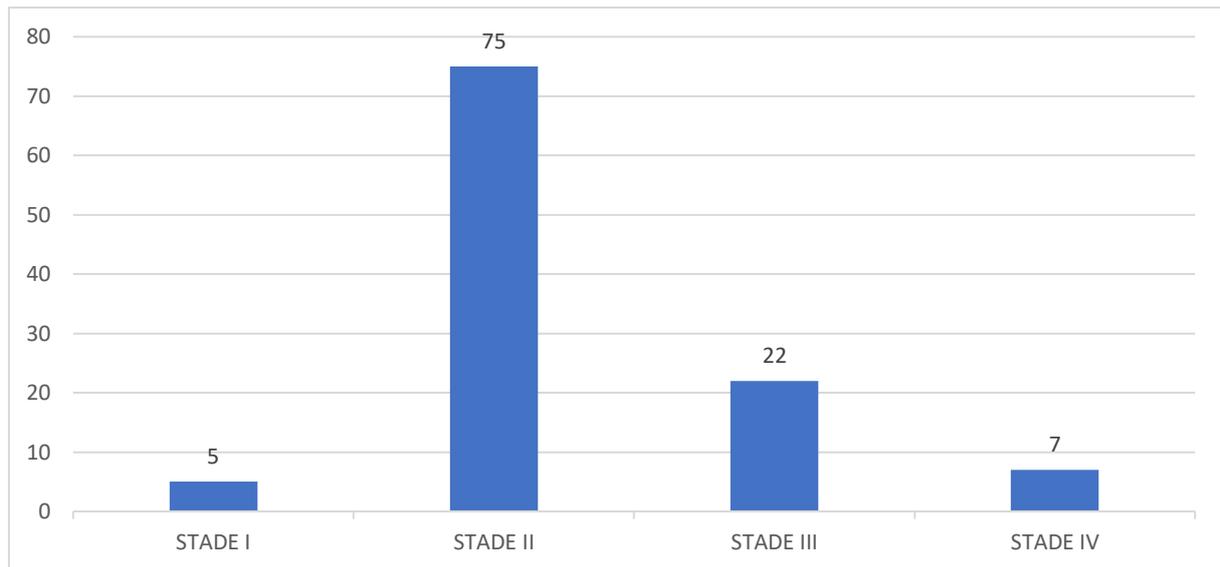
D'autres tests diagnostiques ont été réalisés dans un deuxième temps chez 18 chiens car le résultat du premier test ne permettait pas de conclure à une leishmaniose ou bien une valeur quantitative (titre en anticorps, nombre de copies d'ADN) devait être renseignée avant la mise en place d'un traitement (**Graphique 11**). Les tests ont été réalisés suite à des sérologies douteuses ou des cytologies positives.



Graphique 11 : Tests diagnostiques utilisés en 2^{ème} intention (n = 18)

6 - Gradation clinique selon le groupe LeishVet

Lors du diagnostic de leishmaniose, les chiens ont été classés par stades cliniques selon la classification du groupe LeishVet. La plupart des chiens, soit 69%, sont gradés au stade II (maladie moyenne), soit un stade peu avancé (**Graphique 12**).



Graphique 12 : Stades cliniques selon la classification du groupe LeishVet des chiens inclus dans l'étude lors de la première consultation (n = 109)

En résumé, la majorité des chiens diagnostiqués leishmaniens à l'ENVT ont :

- Présenté des affections dermatologiques comme signe d'appel (53,2%)
- Présenté des signes généraux (78,9%) et des signes cutanéomuqueux (74,3%)
- Présenté une adénomégalie (61,5%)
- Présenté une hyperprotéïnémie (75%) et un rapport albumine/globuline inférieur à 0,8 (74%) à l'analyse biochimique
- Eu un dépistage grâce à une sérologie en première intention (55%)
- Une gradation clinique selon le groupe LeishVet de stade II (68,8%)

III - Discussion

1 - Biais de sélection

Un biais de sélection est une erreur systématique induite dans une étude à cause des méthodes adoptées pour choisir les participants à l'étude.

Les chiens recrutés dans cette étude sont ceux qui ont été amenés directement au CHUVAC de l'ENVT ou qui ont été référés après une consultation chez leur vétérinaire traitant. La répartition géographique des cas n'est pas représentative de tout le Sud-Ouest ou de toute la région toulousaine car de nombreux chiens sont diagnostiqués et traités par d'autres vétérinaires. C'est-à-dire que tous les cas non référés, représentant probablement une grande partie des chiens leishmaniens, n'ont pas été pris en compte dans l'étude.

De plus, les clients référés au CHUVAC de l'ENVT sont possiblement plus motivés financièrement que les clients se présentant seulement dans des cabinets et cliniques vétérinaires, ce qui restreint encore une partie de la population étudiée.

Les cas inclus sont aussi ceux dont les propriétaires ont voulu un diagnostic et une prise en charge thérapeutique de la maladie, excluant donc tous ceux qui n'ont pas pu investiguer ou qui ont décidé d'euthanasier leur animal avant diagnostic de la leishmaniose.

Enfin, 23,7% des résultats des tests diagnostiques étiologiques sont inconnus du fait du remplissage incomplet des comptes-rendus de consultations par les étudiants. En outre, le recensement non méthodique sur CLOVIS et les erreurs d'orthographe du mot « leishmaniose » par les étudiants peut diminuer le nombre de cas recrutés au début lors de la sélection des données.

2 – Anamnèse et commémoratifs

Dans cette étude, les mâles sont plus touchés par la leishmaniose que les femelles, avec un sex-ratio de 1,73. Ceci est en accord avec des résultats d'études précédentes réalisées en Espagne, en Italie ou dans d'autres pays du pourtour méditerranéen (Miranda et al. 2008; Paltrinieri et al. 2010; Rombolà et al. 2021)

Contrairement à d'autres études, les chiens âgés de plus de 6 ans ne représentent pas la majorité des chiens malades puisque dans notre étude 52,3% des chiens sont âgés de un an à six ans (Solano-Gallego et al. 2011; Rombolà et al. 2021). Un chiot a également été diagnostiqué leishmanien à 7,5 mois dans l'étude réalisée. L'hypothèse d'une transmission *in utero* ne peut être exclue.

D'après la littérature, certaines races sont plus sensibles à la maladie (Miranda et al. 2008; Paltrinieri et al. 2010; Solano-Gallego et al. 2011). Dans cette étude, le Boxer est retrouvé parmi les races majoritaires mais les effectifs par races sont trop faibles pour permettre une analyse statistique représentative. Nous notons cependant une bonne représentativité des races dites « sensibles » telles que le Boxer et le Berger Allemand, ainsi que des races ayant une séropositivité plus fréquente telles que l'Épagneul Breton, le Labrador Retriever (Cortes et al. 2012).

D'après Dedet et al. (2013), la leishmaniose canine est endémique dans les départements méditerranéens du sud de la France, dans des zones où le bioclimat est propice au développement et à la survie du vecteur. Cette zone s'étend des Pyrénées-Orientales jusqu'à la Côte d'Azur et la Corse, en passant par les Cévennes et la Provence. Cependant, certains foyers ectopiques sont occasionnellement rencontrés, comme celui de la Moyenne vallée de l'Ariège où un microclimat de végétation méditerranéenne est présent. Mais le territoire géographique d'enzootie ainsi que la prévalence de l'infection ne sont pas exactement connus par manque d'études traitant ce sujet dans la littérature. La cartographie des cas de leishmaniose diagnostiqués au CHUVAC de l'ENVT montre que la leishmaniose est présente partout en Occitanie et plus précisément dans les départements de Haute-Garonne, des Pyrénées-Orientales, du Gers, du Tarn, du Tarn-et-Garonne et de l'Aude. Mais parmi tous ces cas cliniques, certains ont voyagé ou sont originaires de régions endémiques, rendant difficile l'objectivation de la zone d'infection avec certitude. Seulement seize cas sont autochtones (14,7%), c'est-à-dire qu'ils n'ont jamais voyagés ou ne sont pas originaires d'une zone endémique d'après les commémoratifs récupérés lors de la consultation. Parmi ces seize cas autochtones, douze se trouvent dans la région toulousaine, deux d'entre eux dans le Gers, un dans le Lot-et-Garonne et enfin un dans les Landes. Ces données permettent de connaître la localisation exacte de la rencontre entre le chien et le parasite dans le Sud-Ouest de la France. Des phlébotomes infectés sont donc présents dans tous ces départements en raison probablement de l'expansion de leur niche écologique. Il serait intéressant de connaître les lieux de

déplacement de ces animaux infectés afin d'essayer d'identifier le département dans lequel s'est faite la contamination. Cela n'a pas été possible à partir des comptes-rendus disponibles sur CLOVIS, souvent incomplets.

3 – Modifications cliniques et analyses de laboratoires

Les signes d'appels sont souvent des atteintes cutanées car le service diagnostiquant majoritairement les chiens leishmaniens à l'ENVT est le service de dermatologie, générale et spécialisée. Les autres motifs de consultations sont plus imprécis car le service de médecine interne, étant le deuxième service diagnostiquant le plus de cas, est consulté pour de nombreuses maladies complexes.

En comparant les anomalies retrouvées à l'examen clinique de cette étude et celles recensées par Baneth et al. (2008), on remarque que le pourcentage de chiens ayant une atteinte oculaire, une adénomégalie des nœuds lymphatiques superficiels, une splénomégalie et une épistaxis sont similaires. Cependant, le pourcentage de chiens ayant une atteinte cutanée ou une onychogryphose est plus bas que dans les autres études. De même, dans l'étude de Pena et al. (2000), 42,8% des chiens présentant une atteinte oculaire ont une uvéite contre 17,4% dans notre étude.

L'anomalie la plus représentée à la numération de formule sanguine est une anémie normocytaire normochrome comme dans la littérature (Torrecilha et al. 2016). Les chiens azotémiques représentent 10% des chiens de l'étude, confirmant que l'insuffisance rénale chronique est d'apparition tardive au cours de l'évolution de la maladie (Baneth et al. 2008; Solano-Gallego et al. 2009). Dans l'étude menée dans cette thèse, seules les consultations permettant le diagnostic de la maladie ont été prises en compte, et non les consultations de suivi. Ainsi les chiens inclus étaient en général en début d'infection. Peu d'animaux en insuffisance rénale chronique ont donc été enregistrés. Cela est confirmé par la gradation clinique selon la classification du groupe LeishVet montrant que la plupart des chiens sont au stade II (maladie moyenne), un stade peu avancé, lors de cette première consultation. Cependant, 75% des chiens sur lesquels une biochimie sanguine a été réalisée présentent une hyperprotidémie et 74% ont un rapport albumine/globuline inférieur à 0,8, témoignant d'une réponse inflammatoire et immunitaire. L'atteinte rénale est aussi marquée par une protéinurie chez 72% des chiens chez lesquels un RCPU a été réalisé. Mais le

RCPU a seulement été réalisé chez 32 chiens, qui avaient une protéinurie présente sur la bandelette urinaire. Les 13 autres chiens ayant eu une analyse d'urine n'avaient pas de trace de protéine sur la bandelette urinaire.

4 – Tests diagnostiques utilisés

D'après Paltrinieri et al. (2016), l'utilisation des tests diagnostiques peut être requise dans deux contextes différents. Soit lors d'une démarche diagnostique lors de suspicion clinique et paraclinique de leishmaniose, soit dans un contexte d'étude de la prévalence de la maladie dans une région. Dans cette étude, la plupart des chiens ont été testés car la leishmaniose rentrait dans le diagnostic différentiel des signes cliniques qu'ils présentaient au moment de la consultation. Seulement trois chiens de l'étude sont venus pour un dépistage de la leishmaniose et pour connaître leur séroprévalence.

Paltrinieri et al. (2016) conseillent de privilégier une cytologie et/ou une histologie si les lésions sont accessibles lors d'une forte suspicion clinique. Sinon, ils recommandent de réaliser une sérologie quantitative. Dans l'étude réalisée, le premier test utilisé est la sérologie dans 55% des cas et la sérologie couplée à la cytologie dans 28% des cas. La cytologie seule n'a été réalisée que dans 11% des cas pour un premier test diagnostique.

D'autres tests diagnostiques ont été réalisés dans un deuxième temps chez les chiens où le premier test ne suffisait pas à affirmer ou infirmer le diagnostic de leishmaniose d'une part. D'autre part, chez certains chiens, il a été demandé de déterminer la charge parasitaire avec une PCR quantitative ou le titrage en anticorps suite à une cytologie positive avant la mise en place du traitement comme recommandé par certains auteurs (Paltrinieri et al. 2016).

Conclusion

Cette étude a permis d'actualiser les connaissances sur le profil épidémioclinique et sur l'origine géographique des chiens diagnostiqués leishmaniens à l'ENVN entre 2010 et le début de l'année 2023, présents dans le Sud-Ouest de la France et particulièrement dans la région toulousaine.

Ainsi, les chiens leishmaniens sont majoritairement des mâles, de toutes races, avec une représentation plus marquée des Galgo Espagnol, et d'âge supérieur à un an, avec une moyenne de 6 ans. L'atteinte dermatologique est le signe d'appel le plus courant, mais les signes cliniques retrouvés lors de la consultation ayant mis en évidence une infection, récente ou passée, avec le parasite sont majoritairement des signes généraux (78,9%) avec 61,5% de chiens ayant une adénomégalie des nœuds lymphatiques périphériques, et des signes cutanéomuqueux (74,3%). Les autres anomalies rencontrées fréquemment sont l'atteinte rénale dans 24,8% des cas, l'atteinte oculaire dans 21,1% des cas et l'atteinte ostéoarticulaire dans 17,4% des cas. Cependant, ces atteintes sont toujours retrouvées en association avec des signes généraux et/ou cutanéomuqueux.

Enfin, la répartition géographique de ces chiens montre qu'ils vivent dans une grande partie du Sud-Ouest de la France, localisés plus principalement du bassin méditerranéen à l'Est (Montpellier) jusque dans le Gers à l'Ouest, des Hautes-Pyrénées et Pyrénées orientales dans le Sud jusqu'en Aveyron et dans le Lot au Nord. D'autres cas sont plus dispersés, notamment dans la région lyonnaise, la région niçoise et les Landes. En considérant seulement les cas autochtones, c'est-à-dire les cas n'ayant jamais voyagé dans une région considérée comme endémique au cours de leur vie, la répartition géographique est principalement dans la région toulousaine avec douze cas en Haute-Garonne, deux cas dans le Gers, un cas dans le Lot-et-Garonne et un cas dans les Landes. Une rencontre avec le parasite *L. infantum* et son vecteur, le phlébotome, est alors possible dans toutes ces régions et semble donc particulièrement marquée dans la région toulousaine. Des cas plus fréquents pourraient donc être rencontrés dans cette région dans les années à venir. Une étude dans les autres cliniques et cabinets vétérinaires du Sud-Ouest permettrait d'affiner les résultats pour cette région. Pour obtenir une enquête épidémiologique plus globale

sur la France, cette même étude pourrait être répétée dans les autres écoles vétérinaires française, soit à Lyon, Nantes et Maisons-Alfort.

Les données issues de cette étude pourront venir compléter des données de cartographie de la maladie, actuellement en cours en France.

Bibliographie

AGUT, A., CORZO, N., MURCIANO, J., LAREDO, F. G. et SOLER, M., 2003. Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs with leishmaniasis. *Veterinary record*. 2003. Vol. 153, n° 21, pp. 648-652. DOI 10.1136/vr.153.21.648.

ALEMAYEHU, Bereket et ALEMAYEHU, Mihiretu, 2017. Leishmaniasis: A Review on Parasite, Vector and Reservoir Host. *Health Science Journal*. 1 janvier 2017. Vol. 11. DOI 10.21767/1791-809X.1000519.

ALEXANDRE-PIRES, G., PAIS, D., CORREIA, M. et PINA, J.A. Esperança, 2006. Leishmaniosis—A report about the microvascular and cellular architecture of the infected spleen in *Canis familiaris*. *Microscopy Research and Technique*. avril 2006. Vol. 69, n° 4, pp. 227-235. DOI 10.1002/jemt.20267.

ALVAR, Jorge, VÉLEZ, Iván D., BERN, Caryn, HERRERO, Mercé, DESJEUX, Philippe, CANO, Jorge, JANNIN, Jean, BOER, Margriet den et TEAM, the WHO Leishmaniasis Control, 2012. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. *PLOS ONE*. 31 mai 2012. Vol. 7, n° 5, pp. e35671. DOI 10.1371/journal.pone.0035671.

ANTINORI, S., SCHIFANELLA, L. et CORBELLINO, M., 2012. Leishmaniasis: new insights from an old and neglected disease. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2012. Vol. 31, n° 2, pp. 109-118. DOI 10.1007/s10096-011-1276-0.

BANETH, Gad, KOUTINAS, Alexander F., SOLANO-GALLEGO, Laia, BOURDEAU, Patrick et FERRER, Lluís, 2008. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in Parasitology*. juillet 2008. Vol. 24, n° 7, pp. 324-330. DOI 10.1016/j.pt.2008.04.001.

BATES, Paul A., 2007. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology*. août 2007. Vol. 37, n° 10, pp. 1097-1106. DOI 10.1016/j.ijpara.2007.04.003.

BEUGNET, Frédéric, MIRO, Guadalupe, HALOS, Lénaïg et GUILLOT, Jacques, 2021. *Abrégé de parasitologie clinique du chien et du chat*. ISBN 978-2-9550805-4-2.

BIANCIARDI, Paolo, BROVIDA, Claudio, VALENTE, Marialuisa, ARESU, Luca, CAVICCHIOLI, Laura, VISCHER, Claudia, GIROUD, Lucie et CASTAGNARO, Massimo, 2009. Administration of Miltefosine and Meglumine Antimoniate in Healthy Dogs: Clinicopathological Evaluation of the Impact on the Kidneys. *Toxicologic Pathology*. 1 octobre 2009. Vol. 37, n° 6, pp. 770-775. DOI 10.1177/0192623309344088.

BOURDOISEAU, Gilles et CHERMETTE, René, 2015. La leishmaniose canine à *Leishmania infantum*: données actuelles sur une zoonose négligée. *Revue Francophone des Laboratoires*. 1 décembre 2015. Vol. 2015, n° 477, pp. 25-34. DOI 10.1016/S1773-035X(15)30314-2.

BRAGA, Eveline Tozzi, LEITE, João Henrique Artero de Carvalho, ROSA, Fernando Azadinho, TIVELLI, Patrícia, ARAÚJO, Amanda Mariano, ALMEIDA, Breno Fernando Martins de, FERRARI, Heitor Flávio, CIARLINI, Paulo César, MACHADO, Gisele Fabrino et MARCONDES, Mary, 2015. Hypertension and its correlation with renal lesions in dogs with leishmaniasis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. mars 2015. Vol. 24, pp. 45-51. DOI 10.1590/S1984-29612015007.

CARVALHO FERREIRA, Aline Leandra, CARREGAL, Virgínia Mendes, DE ALMEIDA FERREIRA, Sidney, LEITE, Rodrigo Souza et DE ANDRADE, Antero Silva Ribeiro, 2014. Detection of *Leishmania infantum* in 4 different dog samples by real-time PCR and ITS-1 nested PCR. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. avril 2014. Vol. 78, n° 4, pp. 418-421. DOI 10.1016/j.diagmicrobio.2013.10.015.

CHAMAILLÉ, Lise, TRAN, Annelise, MEUNIER, Anne, BOURDOISEAU, Gilles, READY, Paul et DEDET, Jean-Pierre, 2010. Environmental risk mapping of canine leishmaniasis in France. *Parasites & Vectors*. décembre 2010. Vol. 3, n° 1, pp. 31. DOI 10.1186/1756-3305-3-31.

CIARAMELLA, P., OLIVA, G., DE LUNA, R., AMBROSIO, R., CORTESE, L., PERSECHINO, A., GRADONI, L. et SCALONE, A., 1997. A retrospective clinical study

of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary record*. 1997. Vol. 141, n° 21, pp. 539-543. DOI 10.1136/vr.141.21.539.

CIARAMELLA, P., PELAGALLI, A., CORTESE, L., PERO, M.E., CORONA, M., LOMBARDI, P., AVALLONE, L. et PERSECHINO, A., 2005. Altered platelet aggregation and coagulation disorders related to clinical findings in 30 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *The Veterinary Journal*. mai 2005. Vol. 169, n° 3, pp. 465-467. DOI 10.1016/j.tvjl.2004.03.009.

CORTADELLAS, O., FERNANDEZ DEL PALACIO, M. J., BAYON, A., ALBERT, A. et TALAVERA, J., 2006. Systemic hypertension in dogs with leishmaniasis: prevalence and clinical consequences. *Journal of veterinary internal medicine*. 2006. Vol. 20, n° 4, pp. 941-947. DOI 10.1111/j.1939-1676.2006.tb01809.x.

CORTES, Sofia, VAZ, Yolanda, NEVES, Rodolfo, MAIA, Carla, CARDOSO, Luís et CAMPINO, Lenea, 2012. Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. *Veterinary Parasitology*. octobre 2012. Vol. 189, n° 2-4, pp. 189-196. DOI 10.1016/j.vetpar.2012.04.028.

CORTESE, L., PIANTEDOSI, D., CIARAMELLA, P., PERO, M. E., SICA, M., RUGGIERO, G., TERRAZZANO, G. et MASTELLONE, V., 2009. Secondary immune-mediated thrombocytopenia in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary Record*. 2009. Vol. 164, n° 25, pp. 778-782. DOI 10.1136/vr.164.25.778.

COSTA, F. A. L., GOTO, H., SALDANHA, L. C. B., SILVA, S. M. M. S., SINHORINI, I. L., SILVA, T. C. et GUERRA, J. L., 2003. Histopathologic Patterns of Nephropathy in Naturally Acquired Canine Visceral Leishmaniasis. *Veterinary pathology*. 2003. Vol. 40, n° 6, pp. 677-684. DOI 10.1354/vp.40-6-677.

COUTINHO, Maria Teresa Zanatta, BUENO, Lilian Lacerda, STERZIK, Annelise, FUJIWARA, Ricardo Toshio, BOTELHO, Jose Ramiro, DE MARIA, Mario, GENARO, Odair et LINARDI, Pedro Marcos, 2005. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*. mars 2005. Vol. 128, n° 1-2, pp. 149-155. DOI 10.1016/j.vetpar.2004.11.011.

COUTINHO, Maria Teresa Zanatta et LINARDI, Pedro Marcos, 2007. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? *Veterinary Parasitology*. juillet 2007. Vol. 147, n° 3-4, pp. 320-325. DOI 10.1016/j.vetpar.2007.04.008.

DE FREITAS, Eloisa, MELO, Maria Norma, DA COSTA-VAL, Adriane Pimenta et MICHALICK, Marilene Suzan Marques, 2006. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: Potential for infection and importance of clinical factors. *Veterinary Parasitology*. avril 2006. Vol. 137, n° 1-2, pp. 159-167. DOI 10.1016/j.vetpar.2005.12.011.

DEDET, Jean-Pierre, CARME, Bernard, DESBOIS, Nicole, BOURDOISEAU, Gilles, LACHAUD, Laurence et PRATLONG, Francine, 2013. Épidémiologie des leishmanioses autochtones en France métropolitaine et d'outre-mer. *La Presse Médicale*. novembre 2013. Vol. 42, n° 11, pp. 1469-1481. DOI 10.1016/j.lpm.2013.03.010.

DUPREY, Zandra H., STEURER, Francis J., ROONEY, Jane A., KIRCHHOFF, Louis V., JACKSON, Joan E., ROWTON, Edgar D. et SCHANTZ, Peter M., 2006. Canine Visceral Leishmaniasis, United States and Canada, 2000–2003 - Volume 12, Number 3—March 2006 - *Emerging Infectious Diseases journal* - CDC. [en ligne]. 2006. [Consulté le 26 juillet 2023]. DOI 10.3201/eid1203.050811. Disponible à l'adresse : https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/12/3/05-0811_article

FERREIRA, Sidney de Almeida, ALMEIDA, Gregório Guilherme, SILVA, Soraia de Oliveira, VOGAS, Gabriela Peixoto, FUJIWARA, Ricardo Toshio, ANDRADE, Antero Silva Ribeiro de et MELO, Maria Norma, 2013. Nasal, Oral and Ear Swabs for Canine Visceral Leishmaniasis Diagnosis: New Practical Approaches for Detection of *Leishmania infantum* DNA. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 4 avril 2013. Vol. 7, n° 4, pp. e2150. DOI 10.1371/journal.pntd.0002150.

GALLUZZI, Luca, CECCARELLI, Marcello, DIOTALLEVI, Aurora, MENOTTA, Michele et MAGNANI, Mauro, 2018. Real-time PCR applications for diagnosis of leishmaniasis. *Parasites & Vectors*. 2 mai 2018. Vol. 11, n° 1, pp. 273. DOI 10.1186/s13071-018-2859-8.

GEISWEID, K., MUELLER, R., SAUTER-LOUIS, C. et HARTMANN, K., 2012. Prognostic analytes in dogs with *Leishmania infantum* infection living in a non-endemic area. *Veterinary Record*. 2012. Vol. 171, n° 16, pp. 399-399. DOI 10.1136/vr.100637.

GIAPITZOGLU, Smaro, SARIDOMICHELAKIS, Manolis N., LEONTIDES, Leonidas S., KASABALIS, Dimitris, CHATZIS, Manolis, APOSTOLIDIS, Kosmas, THEODOROU, Konstantina, ROUMPEAS, Efstathios et MYLONAKIS, Mathios E., 2020. Evaluation of serum symmetric dimethylarginine as a biomarker of kidney disease in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*. *Veterinary Parasitology*. janvier 2020. Vol. 277, pp. 109015. DOI 10.1016/j.vetpar.2019.109015.

GRAMICCIA, Marina, DI MUCCIO, Trentina, FIORENTINO, Eleonora, SCALONE, Aldo, BONGIORNO, Gioia, CAPPIELLO, Silvia, PAPARCONI, Rosa, FOGLIA MANZILLO, Valentina, MAROLI, Michele, GRADONI, Luigi et OLIVA, Gaetano, 2010. Longitudinal study on the detection of canine *Leishmania* infections by conjunctival swab analysis and correlation with entomological parameters. *Veterinary Parasitology*. août 2010. Vol. 171, n° 3-4, pp. 223-228. DOI 10.1016/j.vetpar.2010.03.025.

GRAMICCIA, Marina et GRADONI, Luigi, 2005. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *International Journal for Parasitology*. octobre 2005. Vol. 35, n° 11-12, pp. 1169-1180. DOI 10.1016/j.ijpara.2005.07.001.

HUNTER, P., 2001. OIE manual for standards of diagnostic tests and vaccines (4th edition), Office International des Épidémiologies: book review. *Journal of the South African Veterinary Association*. 2001. Vol. 72, n° 3, pp. 157-.

JESUS, Laura, ARENAS, Carolina, DOMÍNGUEZ-RUIZ, Marina, SILVESTRINI, Paolo, ENGLAR, Ryane E., ROURA, Xavier et LEAL, Rodolfo Oliveira, 2022. Xanthinuria secondary to allopurinol treatment in dogs with leishmaniosis: Current perspectives of the Iberian veterinary community. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. avril 2022. Vol. 83, pp. 101783. DOI 10.1016/j.cimid.2022.101783.

KILLICK-KENDRICK, R, 1999. The biology and control of Phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology*. 6 mai 1999. Vol. 17, n° 3, pp. 279-289. DOI 10.1016/S0738-081X(99)00046-2.

KOUTINAS, A. F. et KOUTINAS, C. K., 2014. Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmania infantum/chagasi*. *Veterinary pathology*. 2014. Vol. 51, n° 2, pp. 527-538. DOI 10.1177/0300985814521248.

LAMOUREUX, Anaïs, GUYONNET, Alexandre, BENCHEKROUN, Ghita, GUILLOT, Jacques et MAUREY, Christelle, 2016. Traitement et prévention de la leishmaniose canine - Le Point Vétérinaire n° 364 du 01/04/2016. *Le Point Vétérinaire* [en ligne]. 1 avril 2016. N° 364. [Consulté le 17 juillet 2023]. Disponible à l'adresse : <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/le-point-veterinaire/article-rural/n-364/traitement-et-prevention-de-la-leishmaniose-canine.html>

LE RUTTE, Epke A., VAN DER WILT, Lotte S., BULSTRA, Caroline A., NIEBOER, Daan, KONTOROUPI, Periklis, DE VLAS, Sake J. et RICHARDUS, Jan Hendrik, 2021. Incidence and geographical distribution of canine leishmaniosis in 2016—2017 in Spain and France. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 1 juillet 2021. Vol. 25, pp. 100613. DOI 10.1016/j.vprsr.2021.100613.

LÉGER, Nicole et DEPAQUIT, Jérôme, 2001. Les phlébotomes et leur rôle dans la transmission des leishmanioses. *Revue française des laboratoires*. 2001. Vol. 2001, n° 338, pp. 41-48. DOI 10.1016/S0338-9898(01)80350-4.

LENNON, E.M., HANEL, R.M., WALKER, J.M. et VADEN, S.L., 2013. Hypercoagulability in Dogs with Protein-Losing Nephropathy as Assessed by Thromboelastography. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. mai 2013. Vol. 27, n° 3, pp. 462-468. DOI 10.1111/jvim.12067.

LEVY, Esther, MYLONAKIS, Mathios E., SARIDOMICHELAKIS, Manolis N., POLIZOPOULOU, Zoe S., PSYCHOGIOS, Vassilios et KOUTINAS, Alexander F., 2006. Nasal and oral masses in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*. mars 2006. Vol. 35, n° 1, pp. 115-118. DOI 10.1111/j.1939-165X.2006.tb00100.x.

LIMA, Wanderson Geraldo, MICHALICK, Marilene Suzan Marques, MELO, Maria Norma De, TAFURI, Washington Luiz et TAFURI, Wagner Luiz, 2004. Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. *Acta Tropica*. septembre 2004. Vol. 92, n° 1, pp. 43-53. DOI 10.1016/j.actatropica.2004.04.007.

MAIA, C. et CAMPINO, L., 2008. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Veterinary Parasitology*. décembre 2008. Vol. 158, n° 4, pp. 274-287. DOI 10.1016/j.vetpar.2008.07.028.

MANNA, Laura, CORSO, Raffaele, GALIERO, Giorgio, CERRONE, Anna, MUZZI, Paolo et GRAVINO, Angelo Elio, 2015. Long-term follow-up of dogs with leishmaniasis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. *Parasites & Vectors*. 28 mai 2015. Vol. 8, n° 1, pp. 289. DOI 10.1186/s13071-015-0896-0.

MÁRQUEZ, Merce, PEDREGOSA, José Raúl, LÓPEZ, Jesús, MARCO-SALAZAR, Paola, FONDEVILA, Dolors et PUMAROLA, Martí, 2013. *Leishmania* amastigotes in the central nervous system of a naturally infected dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. janvier 2013. Vol. 25, n° 1, pp. 142-146. DOI 10.1177/1040638712466728.

MATTIN, M. J., SOLANO-GALLEGO, L., DHOLLANDER, S., AFONSO, A. et BRODBELT, D. C., 2014. The frequency and distribution of canine leishmaniasis diagnosed by veterinary practitioners in Europe. *The Veterinary Journal*. 1 juin 2014. Vol. 200, n° 3, pp. 410-419. DOI 10.1016/j.tvjl.2014.03.033.

MELLANO, Sophie, 2016. *La leishmaniose canine et humaine à Leishmania infantum en France*.

MENEZES, Rodrigo C., FIGUEIREDO, Fabiano B., WISE, Annabel G., MADEIRA, Maria F., OLIVEIRA, Raquel V. C., SCHUBACH, Tânia M. P., KIUPEL, Matti et LANGOHR, Ingeborg M., 2013. Sensitivity and specificity of in situ hybridization for diagnosis of cutaneous infection by *Leishmania infantum* in dogs. *Journal of Clinical Microbiology*. janvier 2013. Vol. 51, n° 1, pp. 206-211. DOI 10.1128/JCM.02123-12.

MIRANDA, Sonia, ROURA, Xavier, PICADO, Albert, FERRER, Lluís et RAMIS, Antonio, 2008. Characterization of sex, age, and breed for a population of canine

leishmaniosis diseased dogs. *Research in Veterinary Science*. août 2008. Vol. 85, n° 1, pp. 35-38. DOI 10.1016/j.rvsc.2007.09.003.

MIRÓ, Guadalupe, OLIVA, Gaetano, CRUZ, Israel, CAÑAVATE, Carmen, MORTARINO, Michele, VISCHER, Claudia et BIANCIARDI, Paolo, 2009. Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Veterinary Dermatology*. octobre 2009. Vol. 20, n° 5-6, pp. 397-404. DOI 10.1111/j.1365-3164.2009.00824.x.

MÜLLER, N., ZIMMERMANN, V., FORSTER, U., BIENZ, M., GOTTSTEIN, B. et WELLE, M., 2003. PCR-based detection of canine *Leishmania* infections in formalin-fixed and paraffin-embedded skin biopsies: elaboration of a protocol for quality assessment of the diagnostic amplification reaction. *Veterinary Parasitology*. juin 2003. Vol. 114, n° 3, pp. 223-229. DOI 10.1016/S0304-4017(03)00139-0.

MYLONAKIS, Mathios E., PAPAIOANNOU, Nikolaos, SARIDOMICHELAKIS, Manolis N., KOUTINAS, Alexander F., BILLINIS, Charalambos et KONTOS, Vassilios I., 2005. Cytologic patterns of lymphadenopathy in dogs infected with *Leishmania infantum*. *Veterinary Clinical Pathology*. septembre 2005. Vol. 34, n° 3, pp. 243-247. DOI 10.1111/j.1939-165X.2005.tb00048.x.

NABITY, M.b., LEES, G.e., BOGGESS, M.m., YERRAMILLI, M., OBARE, E., YERRAMILLI, M., RAKITIN, A., AGUIAR, J. et RELFORD, R., 2015. Symmetric Dimethylarginine Assay Validation, Stability, and Evaluation as a Marker for the Early Detection of Chronic Kidney Disease in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2015. Vol. 29, n° 4, pp. 1036-1044. DOI 10.1111/jvim.12835.

NAUCKE, Torsten J., AMELUNG, Silke et LORENTZ, Susanne, 2016. First report of transmission of canine leishmaniosis through bite wounds from a naturally infected dog in Germany. *Parasites & Vectors*. 10 mai 2016. Vol. 9, n° 1, pp. 256. DOI 10.1186/s13071-016-1551-0.

OLIVA, Gaetano, DVM, Xavier Roura, CROTTI, Alberto, MAROLI, Michele, CASTAGNARO, Massimo, GRADONI, Luigi, LUBAS, George, PALTRINIERI, Saverio, ZATELLI, Andrea et ZINI, Eric, 2010. Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs.

Journal of the American Veterinary Medical Association. 1 juin 2010. Vol. 236, n° 11, pp. 1192-1198. DOI 10.2460/javma.236.11.1192.

OLIVA, Gaetano, SCALONE, Aldo, FOGLIA MANZILLO, Valentina, GRAMICCIA, Marina, PAGANO, Annalisa, DI MUCCIO, Trentina et GRADONI, Luigi, 2006. Incidence and time course of *Leishmania infantum* infections examined by parasitological, serologic, and nested-PCR techniques in a cohort of naive dogs exposed to three consecutive transmission seasons. *Journal of Clinical Microbiology*. avril 2006. Vol. 44, n° 4, pp. 1318-1322. DOI 10.1128/JCM.44.4.1318-1322.2006.

PALTRINIERI, Saverio, GRADONI, Luigi, ROURA, Xavier, ZATELLI, Andrea et ZINI, Eric, 2016. Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Veterinary Clinical Pathology*. décembre 2016. Vol. 45, n° 4, pp. 552-578. DOI 10.1111/vcp.12413.

PALTRINIERI, Saverio, SOLANO-GALLEGO, Laia, FONDATI, Alessandra, LUBAS, George, GRADONI, Luigi, CASTAGNARO, Massimo, CROTTI, Alberto, MAROLI, Michele, OLIVA, Gaetano, ROURA, Xavier, ZATELLI, Andrea et ZINI, Eric, 2010. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 juin 2010. Vol. 236, n° 11, pp. 1184-1191. DOI 10.2460/javma.236.11.1184.

PASA, S., BAYRAMLI, G., ATASOY, A., KARUL, A., ERTUG, S. et OZENSOY TOZ, S., 2009. Evaluation of serum cystatin-C in dogs with visceral leishmaniasis. *Veterinary Research Communications*. août 2009. Vol. 33, n° 6, pp. 529-534. DOI 10.1007/s11259-008-9200-5.

PENA, M.T., ROURA, X. et DAVIDSON, M.G., 2000. Ocular and periocular manifestations of leishmaniasis in dogs: 105 cases (1993-1998). *Veterinary Ophthalmology*. mars 2000. Vol. 3, n° 1, pp. 35-41. DOI 10.1046/j.1463-5224.2000.00106.x.

PETANIDES, T.A., KOUTINAS, A.F., MYLONAKIS, M.E., DAY, M.J., SARIDOMICHELAKIS, M.N., LEONTIDES, L.S., MISCHKE, R., DINIZ, P., BREITSCHWERDT, E.B., KRITSEPI, M., GARIPIDOU, V.A., KOUTINAS, C.K. et LEKKAS, S., 2008. Factors Associated with the Occurrence of Epistaxis in Natural

Canine Leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *Journal of Veterinary Internal Medicine*. juillet 2008. Vol. 22, n° 4, pp. 866-872. DOI 10.1111/j.1939-1676.2008.0129.x.

PINTO, Aldair JW, FIGUEIREDO, Maria M., SILVA, Fabiana L., MARTINS, Trycia, MICHALICK, Marilene SM, TAFURI, Washington L. et TAFURI, Wagner L., 2011. Histopathological and parasitological study of the gastrointestinal tract of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Acta veterinaria scandinavica*. 2011. Vol. 53, n° 1, pp. 67-67. DOI 10.1186/1751-0147-53-67.

PLEVRAKI, K., KOUTINAS, A. F., KALDRYMIDOU, H., ROUMPIES, N., PAPAZOGLU, L. G., SARIDOMICHELAKIS, M. N., SAVVAS, I. et LEONDIDES, L., 2006. Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *Journal of veterinary internal medicine*. Revised June 26, 2005, August 18, 2005; Accepted September 30, 2005. 2006. Vol. 20, n° 2, pp. 228-233. DOI 10.1111/j.1939-1676.2006.tb02850.x.

PROVERBIO, Daniela, SPADA, Eva, BAGNAGATTI DE GIORGI, Giada, PEREGO, Roberta et VALENA, Emanuela, 2014. Relationship between *Leishmania* IFAT Titer and Clinicopathological Manifestations (Clinical Score) in Dogs. *BioMed Research International*. 2014. Vol. 2014, pp. 412808. DOI 10.1155/2014/412808.

PRUDHOMME, Jorian, 2015. *Phlébotomes et écosystèmes : impact des facteurs biotiques et abiotiques sur la structure génétique et phénotypique des populations* [en ligne]. phdthesis. Université Montpellier. [Consulté le 24 octobre 2023]. Disponible à l'adresse : <https://theses.hal.science/tel-01414996>

RIBEIRO, Raul Rio, SILVA, Sydney Magno da, FULGÊNCIO, Gustavo de Oliveira, MICHALICK, Marilene Suzan Marques et FRÉZARD, Frédéric Jean Georges, 2013. Relationship between clinical and pathological signs and severity of canine leishmaniasis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. septembre 2013. Vol. 22, pp. 373-378. DOI 10.1590/S1984-29612013000300009.

RIOUX, J.-A., GOLVAN, Y.-J., CROSET, H., HOUIN, R., JUMINER, B., BAIN, O. et TOUR, S., 1967. Ecologie des Leishmanioses dans le sud de la France. 1. - Les Phlébotomes: Echantillonnage - Ethologie. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*. 1967. Vol. 42, n° 6, pp. 561-603. DOI 10.1051/parasite/1967426561.

RODRIGUEZ, Anabel Elisa, ESTÉVEZ, José Octavio, NEVOT, María Cecilia, BARRIOS, Alejandra et FLORIN-CHRISTENSEN, Monica, 2017. Leishmania. In : *Parasitic Protozoa of Farm Animals and Pets*. Cham : Springer International Publishing. pp. 289-311. ISBN 978-3-319-70131-8.

ROMBOLÀ, Pasquale, BARLOZZARI, Giulia, CARVELLI, Andrea, SCARPULLA, Manuela, IACOPONI, Francesca et MACRÌ, Gladia, 2021. Seroprevalence and risk factors associated with exposure to *Leishmania infantum* in dogs, in an endemic Mediterranean region. *PloS one*. 2021. Vol. 16, n° 1, pp. e0244923-. DOI 10.1371/journal.pone.0244923.

ROSYPAL, Alexa C., TROY, Gregory C., ZAJAC, Anne M., FRANK, Glenn et LINDSAY, David S., 2005. Transplacental Transmission of a North American Isolate of *Leishmania infantum* in an Experimentally Infected Beagle. *The Journal of Parasitology*. 2005. Vol. 91, n° 4, pp. 970-972.

ROURA, Xavier, FONDATI, Alessandra, LUBAS, George, GRADONI, Luigi, MAROLI, Michele, OLIVA, Gaetano, PALTRINIERI, Saverio, ZATELLI, Andrea et ZINI, Eric, 2013. Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: A working group report. *The Veterinary Journal*. octobre 2013. Vol. 198, n° 1, pp. 43-47. DOI 10.1016/j.tvjl.2013.04.001.

SANTOS, Jamile Prado dos, ALVES, Leucio Câmara, RAMOS, Rafael Antonio Nascimento, PIMENTEL, Danillo de Souza, CARVALHO, Gílcia Aparecida de, MONTEIRO, Maria Fernanda Melo et FAUSTINO, Maria Aparecida da Gloria, 2013. Histological changes and immunolabeling of *Leishmania infantum* in kidneys and urinary bladder of dogs. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. septembre 2013. Vol. 22, pp. 420-423. DOI 10.1590/S1984-29612013000300017.

SARIDOMICHELAKIS, Manolis N., MYLONAKIS, Mathios E., LEONTIDES, Leonidas S., KOUTINAS, Alexander F., BILLINIS, Charalambos et KONTOS, Vassilios I., 2005. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. juillet 2005. Vol. 73, n° 1, pp. 82-86.

SHARMA, Umakant et SINGH, Sarman, 2008. Insect vectors of Leishmania: distribution, physiology and their control. *J VECTOR BORNE DIS.* 2008.

SILVA, Fabiana L., OLIVEIRA, Raquel G., SILVA, Teane M.A., XAVIER, Mariana N., NASCIMENTO, Ernane F. et SANTOS, Renato L., 2009. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology.* mars 2009. Vol. 160, n° 1-2, pp. 55-59. DOI 10.1016/j.vetpar.2008.10.079.

SILVESTRINI, Paolo, PIVIANI, Martina, ALBEROLA, Jordi, RODRÍGUEZ-CORTÉS, Alheli, PLANELLAS, Marta, ROURA, Xavier, O'BRIEN, Peter James et PASTOR, Josep, 2012. Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with leishmaniasis: correlation with age and clinicopathologic abnormalities. *Veterinary Clinical Pathology.* décembre 2012. Vol. 41, n° 4, pp. 568-574. DOI 10.1111/j.1939-165X.2012.00467.x.

SOLANO-GALLEGO, L., KOUTINAS, A., MIRÓ, G., CARDOSO, L., PENNISI, M. G., FERRER, L., BOURDEAU, P., OLIVA, G. et BANETH, G., 2009. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary parasitology.* 2009. Vol. 165, n° 1, pp. 1-18. DOI 10.1016/j.vetpar.2009.05.022.

SOLANO-GALLEGO, Laia, DI FILIPPO, Laura, ORDEIX, Laura, PLANELLAS, Marta, ROURA, Xavier, ALTET, Laura, MARTÍNEZ-ORELLANA, Pamela et MONTSERRAT, Sara, 2016. Early reduction of Leishmania infantum-specific antibodies and blood parasitemia during treatment in dogs with moderate or severe disease. *Parasites & Vectors.* 10 mai 2016. Vol. 9, n° 1, pp. 235. DOI 10.1186/s13071-016-1519-0.

SOLANO-GALLEGO, Laia, MIRÓ, Guadalupe, KOUTINAS, Alek, CARDOSO, Luis, GRAZIA PENNISI, Maria, FERRER, Luis, BOURDEAU, Patrick, OLIVA, Gaetano et BANETH, Gad, 2011. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & vectors.* 2011. Vol. 4, n° 1, pp. 86-86. DOI 10.1186/1756-3305-4-86.

TEODORO DA COSTA, Roberto, CARLOS FRANÇA, João, MAYRINK, Wilson, NASCIMENTO, Evaldo, GENARO, Odair et CAMPOS-NETO, Antonio, 2003. Standardization of a rapid immunochromatographic test with the recombinant antigens K39 and K26 for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Transactions of the*

Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. novembre 2003. Vol. 97, n° 6, pp. 678-682. DOI 10.1016/S0035-9203(03)80102-5.

TERRAZZANO, G., CORTESE, L., PIANTEDOSI, D., ZAPPACOSTA, S., DI LORIA, A., SANTORO, D., RUGGIERO, G. et CIARAMELLA, P., 2006. Presence of anti-platelet IgM and IgG antibodies in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. avril 2006. Vol. 110, n° 3-4, pp. 331-337. DOI 10.1016/j.vetimm.2005.11.001.

TORRECILHA, R.B.P., UTSUNOMIYA, Y.T., BOSCO, A.M., ALMEIDA, B.F., PEREIRA, P.P., NARCISO, L.G., PEREIRA, D.C.M., BAPTISTIOLLI, L., CALVO-BADO, L., COURTENAY, O., NUNES, C.M. et CIARLINI, P.C., 2016. Correlations between peripheral parasite load and common clinical and laboratory alterations in dogs with visceral leishmaniasis. *Preventive Veterinary Medicine*. septembre 2016. Vol. 132, pp. 83-87. DOI 10.1016/j.prevetmed.2016.08.006.

TORRES, M., PASTOR, J., ROURA, X., TABAR, M. D., ESPADA, Y., FONT, A., BALASCH, J. et PLANELLAS, M., 2016. Adverse urinary effects of allopurinol in dogs with leishmaniasis: Urinary adverse effects of allopurinol. *Journal of Small Animal Practice*. juin 2016. Vol. 57, n° 6, pp. 299-304. DOI 10.1111/jsap.12484.

TORRES, Marta, BARDAGÍ, Mar, ROURA, Xavier, ZANNA, Giordana, RAVERA, Iván et FERRER, Lluís, 2011. Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniasis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *The Veterinary Journal*. juin 2011. Vol. 188, n° 3, pp. 346-351. DOI 10.1016/j.tvjl.2010.05.025.

VAMVAKIDIS, C. D., KOUTINAS, A. E, SARIDOMICHELAKIS, M., KANAKOUDIS, G. et GEORGIADIS, G., 2000. Masticatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *Veterinary Record*. 2000. Vol. 146, n° 24, pp. 698-703. DOI 10.1136/vr.146.24.698.

VIEGAS, Carlos, REQUICHA, João, ALBUQUERQUE, Carlos, SARGO, Teresa, MACHADO, João, DIAS, Isabel, PIRES, Maria A, CAMPINO, Lenea et CARDOSO, Luís, 2012. Tongue nodules in canine leishmaniasis — a case report. *Parasites & Vectors*. décembre 2012. Vol. 5, n° 1, pp. 120. DOI 10.1186/1756-3305-5-120.

VON HENDY-WILLSON, Vanessa E. et PRESSLER, Barrak M., 2011. An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. *The Veterinary Journal*. mai 2011. Vol. 188, n° 2, pp. 156-165. DOI 10.1016/j.tvjl.2010.05.006.

XENOULIS, Panagiotis G., SARIDOMICHELAKIS, Manolis N., CHATZIS, Manolis K., KASABALIS, Dimitris, PETANIDES, Theodoros, SUCHODOLSKI, Jan S. et STEINER, Jörg M., 2014. Prospective evaluation of serum pancreatic lipase immunoreactivity and troponin I concentrations in *Leishmania infantum*-infected dogs treated with meglumine antimonate. *Veterinary Parasitology*. juillet 2014. Vol. 203, n° 3-4, pp. 326-330. DOI 10.1016/j.vetpar.2014.03.033.

ZATELLI, A., BORGARELLI, M., SANTILLI, R., BONFANTI, U., NIGRISOLI, E., ZANATTA, R., TARDUCCI, A. et GUARRACI, A., 2003. Glomerular lesions in dogs infected with *Leishmania* organisms. *American journal of veterinary research*. 2003. Vol. 64, n° 5, pp. 558-561. DOI 10.2460/ajvr.2003.64.558.

ZATELLI, Andrea, PALTRINIERI, Saverio, NIZI, Francesca, ROURA, Xavier et ZINI, Eric, 2010. Evaluation of a urine dipstick test for confirmation or exclusion of proteinuria in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2010. Vol. 236, n° 4, pp. 439-439. DOI 10.2460/javma.236.4.439.

MALATERRE Barbara

**Etude rétrospective des cas de leishmaniose canine à l'Ecole Nationale Vétérinaire de
Toulouse entre 2010 et 2023**

La leishmaniose canine est une maladie parasitaire zoonotique, hautement endémique dans le bassin méditerranéen, et en extension vers le Nord de l'Europe. Ce travail de thèse propose une rétrospective des cas de leishmaniose canine diagnostiqués à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse entre 2010 et 2023 (n=109) et permet de définir le profil épidémioclinique de ces patients : chiens mâles, adultes avec un âge moyen de 6 ans, de race pure, résidant dans le sud-ouest de la France. Les troubles dermatologiques sont les motifs de consultation les plus fréquents et les présentations cliniques regroupent essentiellement des signes généraux (78,9%) et des signes cutanéomuqueux (74,3%). Ces signes s'associent fréquemment avec des atteintes rénales, oculaires et ostéoarticulaires. La répartition géographique des cas autochtones montre que *Leishmania infantum* circule activement en Haute-Garonne ainsi que dans le Gers, le Lot-et-Garonne et les Landes, zones géographiques pour lesquelles des données épidémiologiques récentes sont manquantes dans la littérature.

Mots-clés : *Leishmania infantum* ; Leishmaniose canine ; Chien ; Profil épidémioclinique ; ENVT ; France

**Retrospective study of canine leishmaniasis cases at National Veterinary School of Toulouse
between 2010 and 2023**

Canine leishmaniasis is a zoonotic parasitic disease highly endemic in the Mediterranean Basin, and currently spreading northward Europe. This thesis work reports a retrospective study of canine leishmaniasis diagnosed at National Veterinary School of Toulouse, France, between 2010 and 2023 (n=109) aims to define the epidemioclinical profile of these patients. The majority of cases concerns adult male dogs with an average age of 6 years, purebreds, residing in southwest of France. Dermatological issues are the most common reasons for consultation, and clinical presentations mainly include general symptoms (78.9%) and mucocutaneous signs (74.3%). These symptoms are frequently associated with renal, ocular, and osteoarticular involvement. The geographical distribution of autochthonous cases reveals an active circulation of *Leishmania infantum* in Haute-Garonne, as well as in Gers, Lot-et-Garonne, and Landes, geographical areas for which updated epidemiological data are currently lacking in the literature.

Keywords: *Leishmania infantum*; Canine leishmaniasis; Dog; Epidemioclinical profile; ENVT; France