



**HAL**  
open science

# Étude rétrospective des cas de leishmaniose chez le chien au Chuv-AC de l'EnvA entre 2010 et 2023 : épidémiologie, présentation clinique, traitement et facteurs associés à la survie

Nicolas Akir

## ► To cite this version:

Nicolas Akir. Étude rétrospective des cas de leishmaniose chez le chien au Chuv-AC de l'EnvA entre 2010 et 2023 : épidémiologie, présentation clinique, traitement et facteurs associés à la survie. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04416813

**HAL Id: dumas-04416813**

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04416813v1>

Submitted on 25 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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0  
International License

Année 2023

**ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DES CAS DE LEISHMANIOSE  
CHEZ LE CHIEN AU CHUV-AC DE L'ENVA ENTRE 2010 ET  
2023 : ÉPIDÉMIOLOGIE, PRÉSENTATION CLINIQUE,  
TRAITEMENT ET FACTEURS ASSOCIÉS À LA SURVIE**

**THÈSE**

pour obtenir le diplôme d'État de

**DOCTEUR VÉTÉRINAIRE**

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 15 décembre 2023

par

**Nicolas, Mohand, François AKIR**

sous la direction de

**Ghita BENCHEKROUN**

**JURY**

<b>Président du jury :</b>	<b>M. Radu BLAGA</b>	Professeur à l'EnvA
<b>Directrice de thèse :</b>	<b>Mme Ghita BENCHEKROUN</b>	Maître de Conférences à l'EnvA
<b>Examinatrice :</b>	<b>Mme Noëlle COCHET-FAIVRE</b>	Maître de Conférences à l'EnvA



Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire



version décembre 2023

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP	1
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC	2
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP	3
Mme	Benchekroun	Ghita	Maitre de conférences HDR	DEPEC	4
M	Blaga	Radu	Professeur	DSBP	5
M	Blot	Stéphane	Professeur	DEPEC	6
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP	7
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC	8
Mme	Chastant	Sylvie	Professeur	DPASP	9
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP	10
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC	11
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP	12
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP	13
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC	14
M	Desquilbet	Loïc	Professeur	DSBP	15
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP	16
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP	17
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC	18
M	Federighi	Michel	Professeur	DPASP	19
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC	20
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP	21
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC	22
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP	23
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP	24
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP	25
M	Kohlhauer	Matthias	Professeur	DSBP	26
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP	27
Mme	Le Roux	Delphine	Maitre de conférences HDR	DSBP	28
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC	29
Mme	Maurey-Guénec	Christelle	Professeur	DEPEC	30
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP	31
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP	32
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maitre de conférences HDR	DSBP	33
Mme	Rivière	Julie	Maitre de conférences HDR	DPASP	34
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP	35
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP	36
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP	37
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC	38
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC	39

Liste des Maîtres de conférences et ingénieurs de recherche DMV

M	Arné	Pascal	Maitre de conférences	DPASP	1
Mme	Barassin	Isabelle	Maitre de conférences	DPASP	2
Mme	Barbarino	Alix	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC	3
Mme	Bertoni	Lelia	Maitre de conférences	DEPEC	5
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maitre de conférences	DEPEC	7
Mme	Chevalier	Lucie	Maitre de conférences	DSBP	8
Mme	Cochet-Falvre	Noëlle	Maitre de conférences	DEPEC	9
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maitre de conférences	DSBP	10
Mme	Coudry	Virginie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC	11
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maitre de conférences	DSBP	12
M	Crozet	Guillaume	Maitre de conférences	DPASP	13
Mme	De Paula Reis	Alline	Maitre de conférences	DPASP	14
M	Delsart	Maxime	Maitre de conférences	DPASP	15
Mme	Denis	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP	16
M	Deshùllers	Pierre	Maitre de conférences	DSBP	17
M	Gauthier	Michel	Maitre de conférences associé	DPASP	18
Mme	Guérin	Virginie	Maitre de conférences	DSBP	19
Mme	Guétin-Poirier	Valentine	Maitre de conférences	DPASP	20
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC	21
M	Kurtz	Maxime	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC	22
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maitre de conférences	DSBP	23
Mme	Le Dudal	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DSBP	24
Mme	Legrand	Chantal	Maitre de conférences associé	DSBP	25
M	Mammeri	Mohamed	Maitre de conférences	DSBP	26
Mme	Manguin	Estelle	Maitre de conférences	DEPEC	27
Mme	Marignac	Genevieve	Maitre de conférences	DSBP	28
Mme	Marotto	Stéphanie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC	29
Mme	Maurice	Emeline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC	31
Mme	Mespoules-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC	32
Mme	Mtimet	Narjès	Maitre de conférences	DPASP	33
M	Mortier	Jérémy	Maitre de conférences associé	DEPEC	34
M	Nudelmann	Nicolas	Maitre de conférences	DEPEC	35
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC	36
M	Polack	Bruno	Maitre de conférences	DSBP	37
Mme	Quéré	Émilie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC	38
Mme	Ravary-Plumioën	Bérandère	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP	39
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maitre de conférences	DSBP	40
Mme	Rose	Hélène	Maitre de conférences associé	DSBP	41
M	Tanquerel	Ludovic	Maitre de conférences	DEPEC	42

# Remerciements

**Au Dr BLAGA, Président du Jury de cette thèse, Professeur à l'EnvA,**

Pour avoir accepté de présider ce jury, et pour ces heures de TD et TP durant lesquelles votre enthousiasme nous a accompagné.

**Au Dr. BENCHEKROUN, Maître de conférences à l'EnvA,**

Pour ta patience, tes corrections et tes indications bienveillantes. Pour ton œil attentif lors de l'élaboration de cette thèse. Pour toutes ces rondes au chenil, pour ton calme, ta pédagogie et ton plaisir de transmettre. Merci pour tout.

**Au Dr. COCHET-FAIVRE, Maître de conférences à l'EnvA,**

Pour avoir accepté d'examiner ce travail de longue haleine et pour avoir pris le temps de discuter, expliquer et enseigner lors de nos passages au service de dermatologie. Ce sont des moments qui comptent énormément.

**À Lea,**

Pour m'avoir supporté des heures et des heures bloqué sans parler devant ce travail. Pour avoir relu toutes ces pages à la recherche de la petite faute d'orthographe. Pour m'avoir soutenu sans relâche à travers ces 6 années éprouvantes. Et pour tout le reste.

**À mes parents,**

Merci d'y avoir cru.

# Table des matières

---

Liste des figures.....	5
Liste des tableaux .....	7
Liste des abréviations.....	8
Introduction .....	9
<b>Première partie : étude bibliographique .....</b>	<b>11</b>
1. Le parasite et son vecteur : présentation générale .....	11
A. <i>Le parasite</i> .....	11
B. <i>Le vecteur : le phlébotome</i> .....	14
2. La maladie : la leishmaniose .....	15
A. <i>Données épidémiologiques</i> .....	15
B. <i>Physiopathogénèse</i> .....	18
C. <i>Description des différentes présentations cliniques</i> .....	21
D. <i>Description des anomalies biologiques</i> .....	26
3. Diagnostic .....	29
A. <i>Description des outils diagnostiques</i> .....	29
B. <i>Démarche diagnostique</i> .....	32
C. <i>Stades de la maladie</i> .....	33
4. Facteurs pronostiques.....	35
5. Traitement et prévention .....	37
A. <i>Description des différentes molécules</i> .....	37
B. <i>Protocoles thérapeutiques et suivi</i> .....	41
C. <i>Mesures préventives</i> .....	44
<b>Deuxième partie : étude rétrospective.....</b>	<b>49</b>
1. Introduction .....	49
2. Matériels et méthodes .....	49
A. <i>Population de l'étude</i> .....	49
B. <i>Recueil des données</i> .....	50
C. <i>Expositions d'intérêt</i> .....	53
D. <i>Etude descriptive</i> .....	53
E. <i>Analyse de survie</i> .....	54
3. Résultats de l'étude descriptive .....	54
A. <i>Caractéristiques épidémiologiques</i> .....	54
B. <i>Caractéristiques cliniques</i> .....	57
C. <i>Caractéristiques thérapeutiques</i> .....	64
4. Etude sur la survenue du décès lié à la leishmaniose .....	67
A. <i>Analyse de survie générale</i> .....	67
B. <i>Analyse de survie univariée</i> .....	68
5. Discussion.....	76
A. <i>Caractéristiques épidémiologiques</i> .....	76
B. <i>Etude descriptive</i> .....	77
C. <i>Analyse de survie univariée sur la survenue du décès</i> .....	81
D. <i>Limites de l'étude</i> .....	83
<b>Conclusion.....</b>	<b>87</b>
<b>Liste des références bibliographiques .....</b>	<b>89</b>
<b>Annexe 1 : Données relatives aux différents protocoles de traitements.....</b>	<b>103</b>

.....	5
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>7</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>8</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>9</b>
<b>Première partie : étude bibliographique</b> .....	<b>11</b>
1. Le parasite et son vecteur : présentation générale .....	11
A. <i>Le parasite</i> .....	11
a. Taxonomie .....	12
b. Description morphologique .....	12
c. Cycle .....	13
B. <i>Le vecteur : le phlébotome</i> .....	14
a. Description morphologique .....	14
b. Cycle .....	14
c. Milieu de vie .....	15
d. Régime alimentaire .....	15
2. La maladie : la leishmaniose .....	15
A. <i>Données épidémiologiques</i> .....	15
a. Répartition géographique.....	15
b. Influence de l'environnement .....	17
c. Facteurs prédisposants .....	17
B. <i>Physiopathogénèse</i> .....	18
a. Description de la phase subclinique de la maladie .....	18
b. Description de la phase clinique de la maladie .....	19
C. <i>Description des différentes présentations cliniques</i> .....	21
a. Manifestations systémiques .....	23
b. Signes cutanés .....	23
c. Signes oculaires.....	24
d. Autres signes cliniques .....	25
D. <i>Description des anomalies biologiques</i> .....	26
a. Anomalies hématologiques .....	26
b. Anomalies biochimiques .....	27
3. Diagnostic .....	29
A. <i>Description des outils diagnostiques</i> .....	29
a. Sérologie.....	29
b. Examen cytologique.....	30
c. Examen histologique.....	31
d. Amplification en chaîne par Polymerase Chain Reaction (PCR).....	32
e. Culture parasitaire.....	32
B. <i>Démarche diagnostique</i> .....	32
C. <i>Stades de la maladie</i> .....	33
a. Classification par le groupe d'expert LeishVet (Solano-Gallego et al., 2011).....	33
b. Classification par le Canine Leishmaniasis Working Group (CLWG) (Paltrinieri et al., 2010).....	35
4. Facteurs pronostiques .....	35
a. Survie.....	35
b. Atteinte rénale .....	36
c. Hypoalbuminémie .....	36
d. Atteinte hématologique .....	36
e. Protéine C réactive (CRP).....	37
f. Infections concomitantes.....	37
g. Stades de la maladie.....	37
5. Traitement et prévention .....	37
A. <i>Description des différentes molécules</i> .....	37
a. Allopurinol .....	37
b. Antimoniato de méglumine.....	38
c. Miltéfosine.....	39

d. Paromomycine/Aminosidine.....	39
e. Amphotéricine B.....	40
f. Marbofloxacin.....	40
g. Dompidone .....	40
h. Conclusion .....	41
<b>B. Protocoles thérapeutiques et suivi.....</b>	<b>41</b>
a. Protocoles thérapeutiques recommandés en fonction du stade de la maladie .....	41
b. Doses recommandées .....	42
c. Suivi .....	44
<b>C. Mesures préventives.....</b>	<b>44</b>
a. Gestion du milieu de vie.....	44
b. Antiparasitaires .....	45
c. Vaccination .....	46
d. Autres alternatives .....	47
<b>Deuxième partie : étude rétrospective.....</b>	<b>49</b>
1. Introduction .....	49
2. Matériels et méthodes .....	49
A. Population de l'étude.....	49
a. Population source et population cible.....	49
b. Critères d'inclusion.....	49
c. Méthode de sélection.....	50
B. Recueil des données.....	50
a. Données relatives au signalement .....	50
b. Données cliniques relatives à la leishmaniose.....	51
c. Données relatives à l'examen héματο-biochimique.....	51
d. Données relatives au traitement .....	52
e. Données relatives à la réponse au traitement.....	52
f. Données relatives au décès.....	53
C. Expositions d'intérêt.....	53
D. Etude descriptive.....	53
E. Analyse de survie.....	54
a. Définitions des termes.....	54
b. Méthodes utilisées .....	54
3. Résultats de l'étude descriptive .....	54
A. Caractéristiques épidémiologiques.....	54
a. Répartition selon la race .....	54
b. Répartition selon l'âge.....	55
c. Répartition selon le sexe.....	56
d. Répartition selon les lieux d'habitation et de voyage.....	57
B. Caractéristiques cliniques .....	57
a. Répartition selon le stade Leishvet .....	57
b. Répartition selon le type de signes cliniques .....	57
c. Répartition selon les données héματο-biochimiques.....	58
C. Caractéristiques thérapeutiques .....	64
a. Données relatives au traitement .....	64
b. Données relatives à l'évolution de la maladie .....	65
4. Etude sur la survenue du décès lié à la leishmaniose .....	67
A. Analyse de survie générale.....	67
B. Analyse de survie univariée .....	68
a. Selon les caractéristiques cliniques de la leishmaniose.....	68
b. Selon les caractéristiques héματο-biochimiques .....	70
c. Selon le type de protocole thérapeutique.....	75
5. Discussion.....	76
A. Caractéristiques épidémiologiques.....	76
B. Etude descriptive.....	77
a. Stade clinique .....	77

b. Type de signes cliniques .....	77
c. Données hémato-biochimiques.....	79
d. Bilan des anomalies cliniques et hémato-biochimiques .....	80
<b>C. Analyse de survie univariée sur la survenue du décès.....</b>	<b>81</b>
a. Analyse de survie générale .....	81
b. Expositions associées à la survenue du décès.....	81
c. Expositions non associées à la survenue du décès .....	82
<b>D. Limites de l'étude .....</b>	<b>83</b>
a. Constitution de l'échantillon et récolte des données .....	83
b. Biais d'association.....	84
<b>Conclusion.....</b>	<b>87</b>
<b>Liste des références bibliographiques .....</b>	<b>89</b>
<b>Annexe 1 : Données relatives aux différents protocoles de traitements.....</b>	<b>103</b>

# Liste des figures

---

Figure 1. Cycle évolutif de <i>Leishmania infantum</i> , figure tirée de Lamoureux <i>et al.</i> , 2016.....	13
Figure 2. Zone d'enzootie approximative de la leishmaniose en Europe, figure tirée de Lamoureux <i>et al.</i> , 2016 .....	16
Figure 3. Démarche diagnostique en cas de suspicion clinique de leishmaniose (figure adaptée de Solano-Gallego <i>et al.</i> , 2011).....	33
Figure 4 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon en fonction de l'âge au moment du diagnostic de leishmaniose .....	56
Figure 5 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon selon leur tranche d'âge .....	56
Figure 6 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon en fonction du stade LeishVet .....	57
Figure 7 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon en fonction du type de signes cliniques (%)..	58
Figure 8 : Répartition en pourcentage (%) des résultats de l'analyse sérologique chez les chiens de l'échantillon pour lesquels elle a été réalisée en fonction du stade de la maladie .....	63
Figure 9 : Répartition en pourcentage (%) des résultats des examens d'identification directe chez les chiens de l'échantillon chez qui ils ont été réalisés en fonction du stade de la maladie.....	63
Figure 10 : Répartition en pourcentage (%) des résultats des examens d'identification directe chez les chiens de l'échantillon pour lesquels ils ont été réalisés en fonction du type de prélèvement...	64
Figure 11 : Répartition en pourcentage (%) des différents stades de leishmaniose à T0, T1 et T2 chez les 32 chiens de l'échantillon .....	67
Figure 12 : Courbe de survie générale (en jours) des 42 chiens inclus dans l'étude de la survenue d'un décès lié à la leishmaniose .....	68
Figure 13 : Courbe de survie (en jours) en fonction du stade de leishmaniose au moment de la présentation des 42 chiens inclus dans l'étude de la survenue d'un décès lié à la leishmaniose...	69
Figure 14 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence de diathèse hémorragique au moment de la présentation des 42 chiens inclus dans l'étude de la survenue d'un décès lié à la leishmaniose (0 = absence de diathèse hémorragique ; 1 = présence de diathèse hémorragique)	70
Figure 15 : Courbe de survie (en jours) en fonction du titre sérologique au moment de la présentation des 33 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (1 = titre sérologique inférieur à 3 fois la LSIR ; 2 = titre sérologique supérieur à 3 fois la LSIR) .....	71
Figure 16 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence d'une azotémie au moment du diagnostic des 37 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (0 = absence d'azotémie ; 1 = présence d'une azotémie).....	72

Figure 17 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence de protéinurie au moment du diagnostic des 27 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (0 = absence de protéinurie ; 1 = présence d'une protéinurie).....	73
Figure 18 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence d'une hypoalbuminémie au moment du diagnostic des 30 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (0 = absence d'hypoalbuminémie ; 1 = présence d'une hypoalbuminémie).....	74
Figure 19 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence d'une anémie au moment de la présentation des 29 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (0 = absence d'anémie ; 1 = présence d'une anémie) .....	75
Figure 20 : Courbe de survie (en jours) en fonction du protocole de traitement utilisé à T0 des 25 chiens de l'échantillon présentant une leishmaniose de stade 2 pour lesquels les données étaient disponibles (0 = autres traitements ; 1 = allopurinol + antimoniate de méglumine) .....	76

# Liste des tableaux

---

Tableau 1. Exemples de prévalences de la maladie, séroprévalences et prévalences de <i>L. infantum</i> basées sur des techniques sérologiques et de biologie moléculaire, dans plusieurs pays européens dans lesquels la leishmaniose est endémique (Solano-Gallego <i>et al.</i> , 2009) .....	11
Tableau 2. Principales espèces de leishmanies et répartition géographique à travers le monde. ..	12
Tableau 3. Taxonomie des Leishmania .....	12
Tableau 4. Principales manifestations cliniques retrouvées lors de leishmaniose.....	21
Tableau 5. Principales anomalies de laboratoires retrouvées lors de leishmaniose chez le chien (LeishVet, 2022).....	26
Tableau 6. Molécules de première ligne recommandées en association avec le stade de la maladie .....	42
Tableau 7 : Principaux traitement conseillés contre la leishmaniose.....	43
Tableau 8. Principaux antiparasitaires possédant une AMM française pour la prévention contre la leishmaniose .....	45
Tableau 9 : Répartition des races des 51 chiens de l'échantillon .....	55
Tableau 10 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon selon le sexe et le statut stérilisé ou entier .....	57
Tableau 11 : Données relatives au RPCU des chiens de l'échantillon pour lesquels il a été déterminé (avec Q1 et Q3 les 1 <sup>er</sup> et 3 <sup>ème</sup> quartiles respectivement) .....	59
Tableau 12 : Données relatives à la créatinémie des chiens de l'échantillon pour lesquels il a été déterminé .....	59
Tableau 13 : Données relatives aux tests diagnostiques chez les chiens pour lesquels ils ont été réalisés.....	61
Tableau 14 : Données relatives à l'évolution de la maladie parmi chez les chiens de l'échantillon pour qui elle était évaluée.....	66
Tableau 15 : Comparaison des pourcentages (%) des différentes anomalies cliniques et hématobiochimiques de notre étude avec ceux obtenus dans 5 études antérieures .....	81
Tableau 16 : Liste des expositions testées classées par ordre de croissance du log-rank testant l'association avec la survenue du décès lié à la leishmaniose .....	86

# Liste des abréviations

---

ALAT : Alanine Amino-Transférase

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ASAT : Aspartate Amino-Transférase

A/G : Albumine / Globuline

CLWG : Canine Leishmaniasis Working Group

CIVD : Coagulation Intravasculaire Disséminée

CRP : Protéines C Réactive

DAT : Direct Agglutination Test

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

FML : Fucose Mannose Ligand

IRC : Insuffisance Rénale Chronique

IFAT : Immunofluorescent Antibody Test

IF : Immunofluorescence

LSIR : Limite Supérieure de l'Intervalle de Référence

PAL : Phosphatase Alcaline

PCR : Polymerase Chain Reaction

PUPD : Polyuro-Polydipsie

Q1 : Premier quartile

Q3 : Troisième quartile

RPCU : Rapport Protéines/Créatinine Urinaire

T0 : date de la mise en place du traitement

T1 : date de la première consultation de suivi

T2 : date de la seconde consultation de suivi

TCA : Temps de Céphaline Activée

TSM : Temps de Survie Médian

# Introduction

---

La leishmaniose est une maladie infectieuse parasitaire due à un protozoaire dont l'espèce majoritaire en France est *Leishmania infantum*. Le protozoaire est transmis au chien quasi-exclusivement par son vecteur, le phlébotome. D'autres modes de transmission sont rapportés (par transfusion, par voie vénérienne et congénitale, par morsure) mais restent extrêmement marginaux.

La principale zone endémique de leishmaniose en France est actuellement constituée du bassin méditerranéen (Le Rutte *et al.*, 2021), bien que de rares foyers autochtones aient été rapportés plus au nord de l'Europe avec des cas autochtones rapportés récemment jusqu'en Finlande (Karkamo *et al.*, 2014). La plupart des études traitant de leishmaniose ont pour le moment été réalisées dans des régions endémiques.

La présentation clinique de la leishmaniose chez le chien est extrêmement protéiforme. Les signes cliniques varient d'une atteinte cutanée discrète à des formes systémiques extrêmement graves. Les principaux signes cliniques rapportés sont des lésions dermatologiques et une atteinte de l'état général (Shaw *et al.*, 2009 ; Slappendel, 1988). Les principales anomalies biologiques décrites sont une hyperglobulinémie, une hypoalbuminémie et une anémie (Petanides *et al.*, 2008 ; Slappendel, 1988).

La prise en charge de la leishmaniose chez le chien nécessite un suivi régulier au long terme, voire à vie. La plupart des chiens atteints nécessitent l'administration d'un traitement *à minima* de façon intermittente ou tout au long de leur vie. Le choix des molécules utilisées dans le traitement de la leishmaniose doit être fait en fonction de critères cliniques et biologiques (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Les principaux protocoles thérapeutiques incluent l'allopurinol, l'antimoniote de méglumine et la miltéfosine.

A l'heure actuelle, seul un nombre assez restreint d'études s'est intéressé à l'évaluation précise du temps de survie associée à la leishmaniose ainsi qu'aux facteurs pronostiques. La plupart des études décrivant le pronostic n'utilisent pas des valeurs de temps de survie mais des adjectifs comme « bon », ou « réservé », basés sur une classification en stades cliniques associés à différents paramètres cliniques et biologiques (Geisweid *et al.*, 2012).

Dans une première partie bibliographique, nous présenterons la leishmaniose plus en détail ; les présentations cliniques et anomalies hémato-biochimiques les plus fréquentes ainsi que les principaux facteurs pronostiques décrits dans la littérature.

Dans une seconde partie rétrospective, nous nous attacherons à décrire les cas de leishmaniose diagnostiqués au ChuvA (Centre Hospitalier Vétérinaire d'Alfort) entre 2010 et 2023 en détaillant leur épidémiologie, leur présentation clinique et leur réponse au traitement. Nous poursuivrons cette partie rétrospective par une analyse de survie afin de déterminer si certains facteurs établis au moment du diagnostic sont associés à la survie.



# Première partie : étude bibliographique

## 1. Le parasite et son vecteur : présentation générale

### A. Le parasite

La leishmaniose est une maladie infectieuse parasitaire zoonotique due à un protozoaire. L'espèce la plus importante en France est *Leishmania infantum*, qui est également présente dans toute l'Europe. Le Tableau 1 fait état de la prévalence de *L. infantum* dans différents pays d'Europe endémiques de leishmaniose (Solano-Gallego *et al.*, 2009). D'autres espèces de leishmanies sont retrouvées à travers le monde et listées dans le Tableau 2.

**Tableau 1. Exemples de prévalences de la maladie, séroprévalences et prévalences de *L. infantum* basées sur des techniques sérologiques et de biologie moléculaire, dans plusieurs pays européens dans lesquels la leishmaniose est endémique (Solano-Gallego *et al.*, 2009)**

Pays (Région)	Prévalence de la maladie (%)	Séroprévalence (%)	Prévalence de l'infection (%)	Source
France (Sud)	26	IFAT : 3 WB : 67	90	Berrahal <i>et al.</i> , 1996
Grèce (Athènes)	ND	22.4	ND	Lachaud <i>et al.</i> , 2002 ; Sideris <i>et al.</i> , 1999
Italie (Nord-Ouest)	ND	26.4	ND	Zaffaroni <i>et al.</i> , 1999
Portugal (Nord)	3.1	20.4	ND	Cardoso <i>et al.</i> , 2004
Espagne (Majorque)	8-29	8-20	64 - 73 *	Fernández-Bellon <i>et al.</i> , 2008
Croatie (Centre)	8.2	15	ND	Zivicnjak <i>et al.</i> , 2005
Chypre	> 3,7	10	ND	Deplazes <i>et al.</i> , 1998

ND = non déterminé ; WB = Western Blot ; IFAT = Immunofluorescent Antibody Test

\*La prévalence des infections inclus des tests d'immunité cellulaire

**Tableau 2. Principales espèces de leishmanies et répartition géographique à travers le monde.**

Espèces	Zones géographiques
<i>Leishmania aethiopica</i>	Ethiopie, Kenya
<i>Leishmania amazonensis</i>	Amazone (Nord)
<i>Leishmania braziliensis</i>	Amérique Centrale, Amérique du Sud, Mexique
<i>Leishmania donovani</i>	Bangladesh, Birmania Chine, Ethiopie, Inde, Kenya, Soudan
<i>Leishmania guyanensis</i>	Amerique du Sud
<i>Leishmania infantum</i>	Afrique (Nord), Amerique Centrale, Amérique du Sud, Asie Centrale, Chine, Europe, Moyen-Orient
<i>Leishmania major</i>	Afrique (Nord, Subsaharienne, Sahel), Asie Centrale, Inde, Pakistan, Moyen-Orient

#### **a. Taxonomie**

*Leishmania infantum* est un parasite intracellulaire protozoaire de l'ordre des kinétoplastes, de la classe des flagellés, de la famille des Trypanosomatidés et du genre *Leishmania* (Euzéby, 1986) présentant un grand intérêt actuel en médecine humaine et vétérinaire, notamment en raison de sa rapide expansion géographique.

Sa taxonomie précise est reprise dans le Tableau 3.

**Tableau 3. Taxonomie des Leishmania**

<b>Règne</b>	Protista
<b>Sous-règne</b>	Protozoa
<b>Embranchement</b>	Sarcomastigophora
<b>Classe</b>	Zoomastigophorea
<b>Ordre</b>	Kinetoplastida
<b>Sous-ordre</b>	Trypanosomatina
<b>Famille</b>	Trypanosomatidae
<b>Genre</b>	<i>Leishmania</i>

#### **b. Description morphologique**

La leishmanie présente plusieurs stades au cours de son cycle. On y retrouve la forme amastigote et la forme promastigote :

- *Forme amastigote*

La forme amastigote est retrouvée chez l'animal parasité et présente une petite taille (3-4 µm de diamètre), une forme ovoïde ainsi que deux inclusions intra-cytoplasmiques : un noyau arrondi et un kinétoplaste en forme de bâtonnet qui donnera plus tard origine au flagelle (Bourdoiseau, 2004).

- *Forme promastigote*

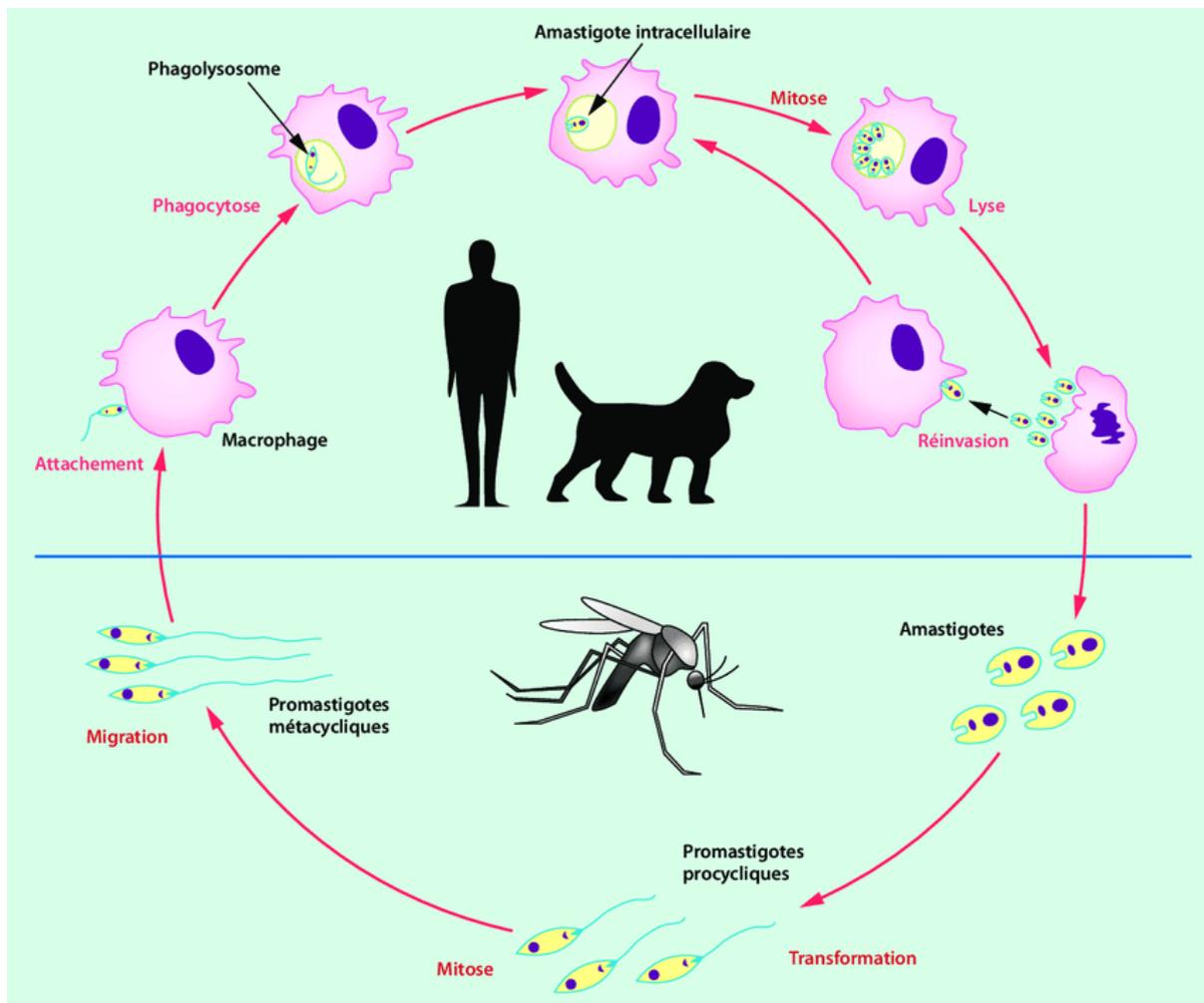
La forme promastigote est retrouvée au sein du vecteur. Elle présente une forme allongée de taille considérablement plus grande que la forme amastigote (15 à 20 µm de longueur pour 1 à 4 µm de large), ainsi qu'un noyau, un flagelle pouvant mesurer jusqu'à 20 µm de long et un kinétoplaste situé entre le noyau et le flagelle qui contient l'ADN mitochondrial (Bourdoiseau, 2004).

### c. Cycle

Les leishmanies sont des parasites à cycle dixène. Leur cycle nécessite donc deux hôtes : un vecteur (le phlébotome) et un hôte vertébré. Le principal hôte mammifère des leishmanies est le chien (Alemayehu et Alemayehu, 2017).

Le cycle des leishmanies débute par le repas sanguin du vecteur, le phlébotome, sur un animal infecté. L'arthropode ingère ainsi un mélange de sang et de lymphes dans lequel sont présents des amastigotes de leishmanies. Au sein du phlébotome, les amastigotes deviennent des promastigotes, capables d'infecter le prochain mammifère sur lequel le phlébotome se nourrit, via la salive injectée au moment du repas sanguin.

**Figure 1. Cycle évolutif de *Leishmania infantum*, figure tirée de Lamoureux *et al.*, 2016**



Les leishmanies sont des parasites intra-cellulaires. Elles se retrouvent notamment par dizaines au sein des phagolysosomes des cellules du système des phagocytes mononucléées (macrophages, histiocytes du derme, cellules de Küpffer du foie et monocytes sanguins) (Bourdoiseau, 2004). Elles résistent aux enzymes lysosomales grâce à une couche protéique les protégeant contre les processus oxydatifs. On va donc retrouver des leishmanies de

façon extrêmement dispersée dans l'organisme : dans le derme, les nœuds lymphatiques, la rate, le foie, la moelle osseuse, le liquide céphalo-rachidien, l'appareil respiratoire, etc. C'est à cette distribution du parasite très large que l'on peut imputer le caractère particulièrement polymorphe des formes cliniques de leishmaniose.

En ce qui concerne leur nutrition, les leishmanies absorbent les protéines des cellules infectées et utilisent les précurseurs de l'ARN des cellules infectées (notamment la purine qu'elles sont incapables de synthétiser seules) afin de synthétiser leur ADN (Bourdoiseau, 2004).

## **B. Le vecteur : le phlébotome**

Le principal mode de transmission de la leishmaniose connu à ce jour est la morsure d'un phlébotome lors de son repas sanguin (Killick-Kendrick, 1999), bien que de rares cas de transmission vénérienne (Symmers, 1960), congénitale (Eltoum *et al.*, 1992) ou par transfusion (Bruce-Chwatt, 1972) aient été rapportés chez l'Homme. D'autres modalités de transmission sont suspectées mais n'ont pas encore été démontrées : contamination directe entre chiens par morsure, transmission par d'autres arthropodes hématophages (tiques, puces, etc.) à partir d'ulcères cutanés par exemple (Lamoureux *et al.*, 2016). Les espèces de phlébotomes connus pour être vecteurs de *Leishmania infantum* dans le bassin méditerranéen sont notamment *Phlebotomus ariasi*, *Phlebotomus neglectus*, *Phlebotomus perniciosus*, *Phlebotomus tobbi* et *Phlebotomus sergenti* (Killick-Kendrick, 1999). Sur le territoire Français, les espèces majoritairement impliquées dans la transmission de la leishmaniose sont *Phlebotomus ariasi* et *Phlebotomus perniciosus*.

D'après une étude récente, le pouvoir vectoriel du phlébotome semble de plus être majoré par une attirance plus grande des phlébotomes pour les chiens déjà infectés par *Leishmania infantum* comparé aux chiens sains (Chelbi *et al.*, 2021).

### **a. Description morphologique**

Le phlébotome est un insecte mesurant entre 2 et 4 mm, de couleur jaune pâle, présentant un thorax arrondi et bossu, un abdomen segmenté, des antennes à 16 segments et des ailes velues, lancéolées à apex pointu, dressées au repos et dont les nervures convergent vers le thorax. Les pièces buccales, présentes uniquement chez la femelle sont de type piqueur et forment une courte trompe. (Bourdoiseau, 2004).

### **b. Cycle**

Les phlébotomes sont holométaboles et présentent un cycle d'une durée de 35 à 60 jours avec une métamorphose complète. Cinq à dix jours après l'accouplement, la femelle pond une centaine d'œufs qui éclore quatre à dix-sept jours après la ponte.

Le cycle du phlébotome comprend alors quatre stades larvaires terrestres consécutifs qui se succèdent au cours de 3 semaines et un stade nymphal. Les larves présentent une ou deux paires de soies caudales, une tête bien distincte, noire et dépourvue d'antenne. La nymphe mesure 3 mm de long, possède un céphalothorax et un abdomen segmenté. Son tégument est recouvert de soies courtes. L'œuf de phlébotome est de forme elliptique, d'une taille d'environ 400 µm de long. La couleur de l'œuf évolue de blanchâtre au moment de la ponte à brun foncé en quelques heures.

Durant la période hivernale, les stades larvaires du phlébotome initient une diapause afin de permettre leur survie (Bourdoiseau, 2004).

### **c. Milieu de vie**

La répartition géographique des phlébotomes en France est vaste et s'étend du bassin méditerranéen jusqu'à la vallée de la Loire, en fonction de la température.

Les principales conditions environnementales au développement du phlébotome sont un climat tempéré, un degré d'hygrométrie élevée, des zones peu ventées et abritées et de faibles variations de température.

La période d'activité des phlébotomes est maximale durant la période estivale (avril-novembre), au moment du crépuscule et consiste majoritairement en la recherche du repas sanguin. Leur vol est habituellement proche du sol, saccadé et de courte distance, mais peut s'étendre jusqu'à 1km pour la recherche d'un repas sanguin si les bonnes conditions climatiques sont réunies (Bourdoiseau, 2004).

### **d. Régime alimentaire**

Les phlébotomes mâles et femelles se nourrissent essentiellement de sucres floraux et fruitiers ainsi que de miellats de pucerons. Seule la femelle phlébotome est considérée comme vecteur de la leishmaniose : contrairement au mâle, elle possède une paire de mandibules nécessaires pour percer la peau et accéder au repas sanguin par telmophagie, indispensable à la maturation de ses œufs. Les cibles de la femelle phlébotomes sont diverses. Elle peut en effet se nourrir sur les mammifères, et les oiseaux mais aussi sur les reptiles et les batraciens. En cas d'infection par des leishmanies, la femelle phlébotome devient infestante pour le reste de sa vie au terme d'une période de latence de 15 jours environ (Euzéby, 1986). Le repas sanguin dure entre 30 secondes et 5 minutes, il est facilement interrompu par des éléments extérieurs et peut être réalisé en plusieurs morsures sur le même animal, préférentiellement au niveau des zones présentant une faible densité de poils (face interne des oreilles, museau, ...). C'est au cours de ce repas sur un animal contaminé que les leishmanies sont aspirées par le phlébotome. C'est également au cours de ce repas que les leishmanies sont inoculées par le phlébotome à un animal sain (Bourdoiseau, 2004). Les phlébotomes pénètrent le derme et l'épiderme de l'hôte jusqu'à une profondeur comprise entre 0,26 et 0,32 mm et créent un lac sanguin tissulaire en dilacérant les tissus et les parois des capillaires. Cette action a pour effet de libérer les macrophages présents dans le derme ainsi que des amastigotes dans le lac sanguin. Les phlébotomes ne se nourrissent pas directement dans le système sanguin de l'hôte mais dans le lac sanguin et leur contamination par les leishmanies viendrait autant des tissus infectés que du sang (Bates, 2007 ; Lewis, 1987).

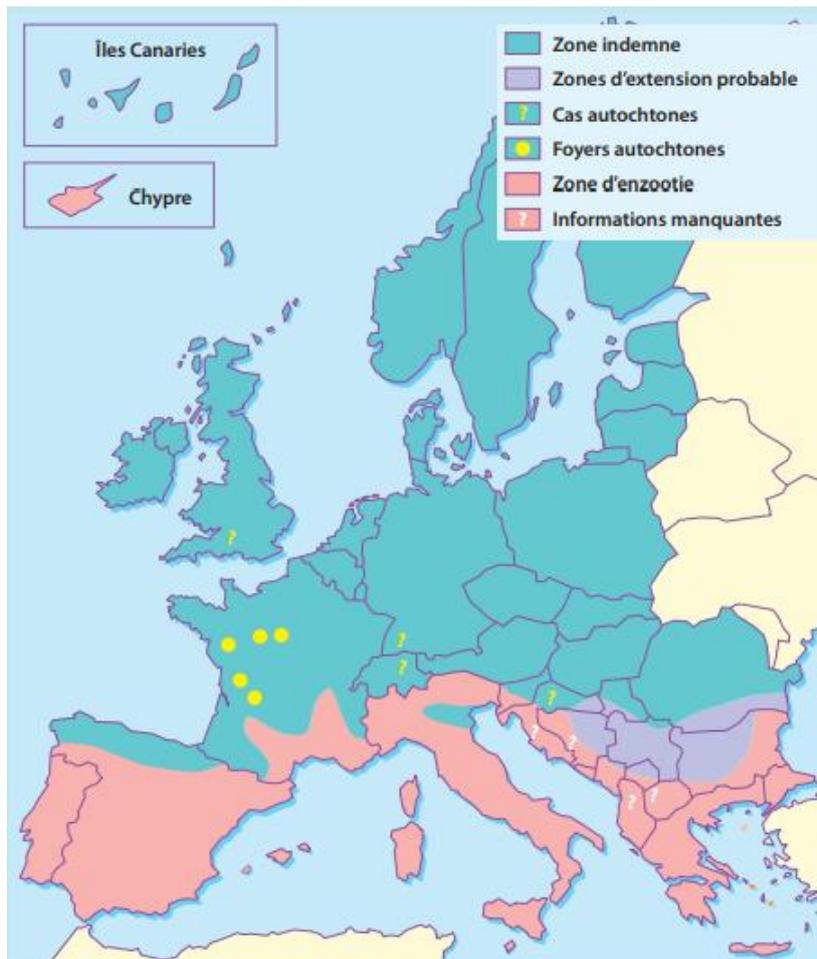
## **2. La maladie : la leishmaniose**

### **A. Données épidémiologiques**

#### **a. Répartition géographique**

Il y a encore quelques années, on définissait 3 principaux foyers de leishmaniose en France : le foyer catalan, le foyer cévenol-languedocien et le foyer de Provence-côte d'azur. Aujourd'hui, les trois foyers ont fusionné pour s'étendre sur l'ensemble du bassin méditerranéen, qui correspond au principal territoire habitable par les phlébotomes tout au long de l'année (Le Rutte *et al.*, 2021). Les prévisions actuelles sont en faveur d'une forte et rapide expansion de ces territoires vers le Nord dans les années à venir (Chalghaf *et al.*, 2018).

Figure 2. Zone d'enzootie approximative de la leishmaniose en Europe, figure tirée de Lamoureux *et al.*, 2016



A l'origine, les principaux réservoirs de leishmaniose étaient les petits mammifères (rongeurs notamment) et les canidés sauvages (renards, loups). L'urbanisation croissante du cycle zoonotique a ensuite donné un rôle de plus en plus important aux animaux domestiques, notamment au chien, qui est actuellement considéré comme le principal réservoir (Euzéby, 1986).

Des cas de leishmaniose féline et équine (Rolão *et al.*, 2005) ont aussi été décrits. La réceptivité de la leishmaniose s'étend également à d'autres mammifères tels que les bovins, les ovins et les caprins qui s'infectent mais n'expriment pas de forme clinique de la maladie (Bourdoiseau, 2004 ; Dos Santos *et al.*, 2021 ; Rolão *et al.*, 2005).

En zone enzootique, le taux d'infection chez le chien peut atteindre 60 % à 90 % (diagnostic par PCR ou sérologie) (Oliva *et al.*, 2006 ; Solano-Gallego *et al.*, 2001a), en sachant que la prévalence sérologique est bien plus grande que la prévalence clinique : seuls 40-50 % des chiens infectés développent une forme clinique (Martínez *et al.*, 2011 ; Marty *et al.*, 2007 ; Oliveira *et al.*, 2019). La raison du développement ou non d'une forme clinique selon les individus n'est pas encore parfaitement comprise mais est liée à des différences de réponses immunologiques de l'hôte.

La prévalence de chiens infectés séropositifs pour la leishmaniose en France est d'environ 20 % en zone endémique selon des études du début des années 2000 (Keck et Dereure, 2003 ; Marty *et al.*, 2007). Une étude de 2009 montre quant à elle une prévalence de l'infection allant

jusqu'à 50 % en zone endémique française (Aoun *et al.*, 2009). Ces données illustrent bien la progression de la leishmaniose, qui occupe une place de plus en plus importante dans le quotidien des vétérinaires.

### ***b. Influence de l'environnement***

Le risque pour un chien d'être séropositif s'avère plus grand en zone rurale, à proximité de zones boisées ou de zones de cultures qui favorisent la survie des vecteurs et la proximité des chiens avec eux (Belo *et al.*, 2013).

### ***c. Facteurs prédisposants***

- **Sexe**

De nombreuses études n'ont pas trouvé de lien entre le sexe et le développement d'une leishmaniose chez le chien (Acedo Sánchez *et al.*, 1996 ; Amela *et al.*, 1995 ; Morillas *et al.*, 1996), mais d'autres études décrivent une surreprésentation des mâles à partir de 7 ans d'âge (Fisa *et al.*, 1999 ; Rombolà *et al.*, 2021).

- **Âge**

L'âge du chien semble avoir un impact sur le développement d'une forme clinique de leishmaniose selon un modèle bimodal : on observe un pic d'infection (80 %) chez les chiens de moins de 3 ans et un autre pic, moins élevé, chez les chiens entre 8 et 10 ans (Acedo Sánchez *et al.*, 1996 ; Amela *et al.*, 1995). Le premier pic représente probablement les chiens susceptibles de développer une forme clinique de la maladie (potentiel phénotype « sensible ») tandis que le second pic inclut des chiens qui peuvent avoir contracté une forme subclinique de l'infection durant un long moment (potentiel phénotype « résistant ») et chez qui la réponse immunitaire peut avoir été diminuée en raison d'affection intercurrentes (potentiellement liées à l'âge) (Baneth et Solano-Gallego, 2022).

- **Mode de vie**

Les chiens ayant un mode de vie majoritairement extérieur sont plus à risque de présenter une séropositivité que les chiens d'intérieur car ils sont plus à risque d'être en contact répété avec le vecteur (Almeida *et al.*, 2012). Les chiens de chasse seraient également plus à risque, non seulement en raison de leur exposition fréquente et prolongée au vecteur, mais également en raison de leur mode de vie. Enfin, la cohabitation avec d'autres chiens, notamment en zone endémique est un facteur de risque (Rombolà *et al.*, 2021).

- **Pelage**

Les phlébotomes ayant tendance à piquer les zones glabres ou peu velues, les chiens présentant un pelage court sont plus à risque d'être séropositifs (Cortes *et al.*, 2012 ; Rombolà *et al.*, 2021).

- **Race**

La race du chien en rapport avec la résistance ou la sensibilité à la leishmaniose a été étudiée. Il a ainsi été montré que les Podenco d'Ibiza présentent une immunité cellulaire anti-leishmaniose (voie Th1) significativement prédominante comparé aux autres races, suggérant une meilleure résistance à cette maladie (Solano-Gallego *et al.*, 2000).

Une étude plus ancienne (Abranches *et al.*, 1991) met en évidence une surreprésentation de formes cliniques de leishmaniose chez les bergers allemands et les dobermans en zone endémique de leishmaniose (région de Lisbonne). Cette étude est complétée par d'autres, plus récentes qui semblent confirmer cette prédominance du berger allemand et pointer vers une susceptibilité accrue à la leishmaniose chez les boxers, cockers et rottweilers également (França-Silva *et al.*, 2003 ; Sideris *et al.*, 1999). Ces variations de susceptibilité chez certaines races sont très certainement dues à une composante génétique.

Une étude de 2002 montre l'existence d'un gène intervenant dans la résistance naturelle ou la susceptibilité d'un chien à l'infection : le gène *Slc11a1* (autrefois *NRAMP1* = Natural Resistance-Associated Macrophage Protein), codant pour une protéine permettant le transport du fer, impliquée dans le contrôle et la réplication du parasite au sein du phagocyte. Il a également été mis en évidence un haplotype de ce gène spécifique du podenco d'Ibiza (Sanchez-Robert *et al.*, 2008), qui se trouve être une race apparemment plus résistante que les autres à la leishmaniose comme suggéré précédemment. Un allèle particulier de ce gène (TAG-8-141) est retrouvé en plus grande proportion chez le boxer et pourrait être associé à une plus grande susceptibilité à la leishmaniose. Un autre allèle (TAG-9-145) a été montré comme étant protecteur de la leishmaniose spécifiquement chez le boxer (Sanchez-Robert *et al.*, 2005).

Un autre gène étudié dans le cadre de la résistance et de la susceptibilité à la leishmaniose est le gène *CBD1* (Canine- $\beta$ -defensin-1). Ce gène code pour des protéines impliquées dans la mise en place de l'immunité innée et pourrait être associé à une plus grande résistance à la leishmaniose (de Vasconcelos *et al.*, 2019).

Ces résultats soulignent un potentiel rôle sous-jacent de la génétique de race dans la résistance et la susceptibilité des chiens à la leishmaniose et au développement de la maladie après une infection.

## **B. Physiopathogénèse**

Le temps d'incubation entre l'infection et le développement d'une forme clinique de leishmaniose est très variable et peut s'étendre jusqu'à plusieurs années. Il est rapporté certains cas pour lesquels les premiers signes cliniques de la maladie se sont déclarés dans les 5 à 7 ans suivant un voyage en zone endémique (Koutinas *et al.*, 2008 ; Slappendel, 1988).

Après l'infection initiale causée par la piqûre de phlébotome, les formes promastigotes libres sont phagocytées par les macrophages et d'autres cellules du système phagocytaire mononucléaire du chien, où elles se transforment en amastigotes intracellulaires. Les amastigotes se multiplient à l'intérieur de la cellule hôte jusqu'à provoquer sa lyse, libérant ainsi les parasites dans le sang ou l'espace interstitiel, où ils infectent d'autres cellules, et ainsi de suite (Handman et Bullen, 2002 ; Rittig et Bogdan, 2000). Parallèlement à ces processus, le système immunitaire de l'hôte contrôle le développement de l'infection, du moins dans un premier temps (Kaye et Scott, 2011).

### **a. Description de la phase subclinique de la maladie**

Les premières cellules à atteindre le site de l'infection sont les neutrophiles, qui phagocytent les parasites et les détruisent grâce à la libération d'espèces réactives de l'oxygène. Il est important de souligner que les leishmanies, à l'intérieur du phagolysosome, manipulent les mécanismes de réponse de la cellule en produisant des antioxydants (grâce à la superoxyde dismutase), ce qui

leur permet de survivre plus longtemps dans le phagolysosome. De plus, leur membrane possède des lipophosphoglycanes qui piègent les espèces réactives de l'oxygène. Elles diminuent également la production d'IL-12 par les macrophages, qui est essentielle pour le développement des cellules Th1 CD4+. De plus, elles interfèrent avec les voies d'apoptose des neutrophiles, retardant, voire empêchant complètement leur apoptose en cas de survie dans le phagolysosome.

Parallèlement, les cellules Th17 sécrètent de l'IL-17, ce qui entraîne le recrutement de neutrophiles supplémentaires et de macrophages. L'IL-17 favorise également la production d'IFN-gamma par les neutrophiles et les cellules Th1 CD4+, et réduit la production d'IL-10. L'IL-10 est une cytokine anti-inflammatoire produite par les macrophages et les cellules B, qui supprime les cellules Th1 CD4+ produisant elles-mêmes des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN-gamma.

La sécrétion d'IFN-gamma active les macrophages sur le site de l'infection. Les macrophages sont les principales cellules hôtes des leishmanies. Ils phagocytent les parasites et, une fois activés, libèrent des espèces réactives de l'oxygène à l'intérieur du phagolysosome pour les détruire et empêcher leur réplication intracellulaire.

Pendant cette phase, les macrophages produisent une grande quantité d'IL-12, ce qui permet la production de cellules Th1 CD4+. Les cellules Th1 CD4+ sécrètent elles-mêmes de l'IL-2, favorisant ainsi la production de cellules Th1 CD4+ supplémentaires. Les cellules Th1 CD4+ sécrètent également de l'IFN-gamma, qui permet l'activation de nouveaux macrophages et la destruction des leishmanies, et ainsi de suite. Le recrutement massif de cellules Th1 CD4+ crée un environnement propice à la destruction des leishmanies.

Parallèlement à cela, les cellules B arrivent sur le site de l'infection et jouent le rôle de cellules présentatrices d'antigènes (CPA) pour les cellules Th1 CD4+, qui à leur tour activent d'autres cellules B produisant des anticorps spécifiques contre les leishmanies. Ces anticorps, une fois liés aux parasites, provoquent leur opsonisation (phagocytose médiée par les anticorps) par les macrophages activés (Toepp et Petersen, 2020).

Tous ces mécanismes permettent un contrôle initial de l'infection. Cependant, l'issue de la maladie dépend du maintien de cet équilibre immunitaire en faveur de la voie dite « de type Th1 ».

### ***b. Description de la phase clinique de la maladie***

Au fur et à mesure de la progression de la maladie, l'organisme éprouve de plus en plus de difficultés à maintenir un équilibre immunitaire adéquat. Après plusieurs mois ou années d'exposition au parasite, les neutrophiles, incapables d'entrer en apoptose comme expliqué précédemment, cessent de produire de l'IFN-gamma, ce qui réduit l'activation des macrophages et favorise ainsi la survie des parasites intracellulaires. De leur côté, les cellules Th17 continuent de sécréter de l'IL-17, ce qui entraîne un recrutement croissant de macrophages et de neutrophiles.

L'augmentation de la proportion de macrophages non activés conduit à une diminution de la production d'IL-12, ce qui se traduit par une diminution du nombre de cellules Th1 CD4+ et donc de la sécrétion d'IFN-gamma. Cela crée une boucle dans laquelle les macrophages deviennent inactifs, favorisant la survie et la multiplication accrue des parasites à l'intérieur d'eux.

Un changement dans l'expression des récepteurs de surface des cellules B entraîne une augmentation de la production d'IL-10 par ces cellules, ce qui contribue à inhiber l'activation des macrophages et la prolifération des cellules T CD4+.

Tous ces mécanismes de régulation conduisent à ce qu'on appelle « le phénomène d'épuisement » des cellules T, caractérisé par une réduction de la sécrétion d'IFN-gamma et une production minimale à absente de lymphocytes spécifiques des leishmanies. Ce changement dans l'équilibre immunitaire favorise la prolifération des parasites à l'intérieur des macrophages, entraînant leur destruction et, par conséquent, une réaction du système des phagocytes mononucléés qui se traduit par une prolifération intense des macrophages dans le foie, la rate et les ganglions lymphatiques.

Cette prolifération massive des macrophages et des lymphocytes B entraîne l'hypertrophie de divers organes, notamment le foie, la rate et les ganglions lymphatiques, qui se manifestent par une hyperglobulinémie, une anémie par hypersplénisme et des troubles cutanés fréquemment observés en raison de l'invasion macrophagique du derme (Baneth *et al.*, 2008 ; Baneth et Solano-Gallego, 2022 ; Bussiéras et Chermette, 1992, 1992 ; Giunchetti *et al.*, 2008 ; Koutinas *et al.*, 2008 ; Meléndez-Lazo *et al.*, 2018). Il convient de noter que la splénomégalie n'est généralement pas suffisamment marquée pour être détectée lors de l'examen clinique, contrairement à d'autres affections qui entraînent une splénomégalie palpable (ehrlichiose, babésiose, lymphome, torsion splénique). Elle est le plus souvent de découverte fortuite lors d'une échographie abdominale ou lors de l'autopsie (Koutinas *et al.*, 1999).

Chez les chiens plus âgés, le passage d'une forme subclinique à une forme clinique de leishmaniose peut être expliqué en partie par une baisse de l'immunité due à une affection concomitante telle qu'une néoplasie, une maladie endocrinienne ou une autre infection (Baneth et Solano-Gallego, 2022).

Pendant la phase clinique, on observe également une augmentation importante de la population de lymphocytes B associée à une production élevée d'anticorps non spécifiques, ce qui explique l'hyperglobulinémie souvent observée lors des analyses sanguines. En association avec une charge parasitaire croissante, ces anticorps conduisent à la formation de complexes immuns qui se déposent au niveau des reins, ainsi que d'autres organes tels que les articulations ou les yeux, favorisant le développement de manifestations cliniques telles qu'une uvéite, une glomérulonéphrite ou une polyarthrite. Dans des conditions climatiques froides, il a été observé le développement de cryoglobulines, qui peuvent précipiter dans les vaisseaux sanguins des extrémités et entraîner une ischémie nécrosante de ces dernières (Baneth et Solano-Gallego, 2022).

La production accrue d'anticorps non spécifiques a également été mise en cause dans la génération d'auto-anticorps impliqués dans le développement d'une thrombocytopenie auto-immune (Cortese *et al.*, 2009).

Les lésions glomérulaires causées par le dépôt des complexes immuns entraînent une glomérulonéphrite caractérisée par une protéinurie. On observe également une réponse inflammatoire qui participe à une diminution de la production d'albumine par le foie. Une hypoalbuminémie est fréquemment observée pour ces deux raisons (Toepp et Petersen, 2020).

Au vu de ces informations, il apparaît que le polymorphisme de la leishmaniose peut être expliqué par les interactions complexes entre le parasite, son développement et le contexte immunologique et génétique de l'hôte (Maia et Campino, 2012).

### C. Description des différentes présentations cliniques

La leishmaniose a une présentation clinique extrêmement protéiforme due aux interactions complexes entre le parasite et la génétique ainsi que le bagage immunologique de l'hôte (Maia et Campino, 2012).

Les principaux signes cliniques retrouvés lors de leishmaniose sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 4. Principales manifestations cliniques retrouvées lors de leishmaniose**

Manifestations cliniques		Sources
<p><b>Manifestations dermatologiques (56-89%)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dermatite exfoliative non prurigineuse avec ou sans alopecie (56-64,1 %)</li> <li>- Dermatite érosive-ulcéralive (34,4-40 %)</li> <li>- Pyodermite bactérienne (24,2 %)</li> <li>- Hyperkératose de la truffe (18,6 %)</li> <li>- Alopecie péri-oculaire (18 %)</li> <li>- Hyperkératose des coussinets (14,1 %)</li> <li>- Alopecie diffuse (14 %)</li> <li>- Onychogryphose (8-30,5 %)</li> <li>- Paronychie (6,3 %)</li> <li>- Dermatite nodulaire (2,3 %)</li> <li>- Lésions cutanéomuqueuses et muqueuses ulcéralives ou nodulaires (muqueuses buccales, génitales ou nasales) (2-17%)</li> <li>- Dermatite pustuleuse (1,6 %)</li> </ul>	<p>Ciaramella <i>et al.</i>, 1997 ; Koutinas <i>et al.</i>, 1999 ; Meléndez-Lazo <i>et al.</i>, 2018 ; Shaw <i>et al.</i>, 2009 ; Solano-Gallego <i>et al.</i>, 2001b</p>
<p><b>Manifestations systémiques (70-78%)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lymphadénomégalie (49-90 %)</li> <li>- Perte de poids (25,3-51 %)</li> <li>- Appétit diminué (16.5-32,5 %)</li> <li>- Polyphagie (15 %)</li> <li>- Léthargie (8,2-60 %)</li> <li>- Troubles digestifs (8-30 %)</li> <li>- Splénomégalie (5,9-53 %)</li> <li>- Epistaxis (5-15 %)</li> <li>- Hyperthermie (4-36 %)</li> <li>- Polyuro-polydipsie (3,8-40 %)</li> </ul>	<p>Ciaramella <i>et al.</i>, 1997 ; Koutinas <i>et al.</i>, 1999 ; Meléndez-Lazo <i>et al.</i>, 2018 ; Shaw <i>et al.</i>, 2009 ; Slappendel, 1988 ; Solano-Gallego <i>et al.</i>, 2001b</p>

Manifestations ophtalmologiques (10-25,5%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Conjonctivite (nodulaire) (24,1-32,5 %)</li> <li>- Blépharite (exfoliative, ulcéralive ou nodulaire) (12 %)</li> <li>- Kératoconjonctivite, parfois sèche (7,5-10 %)</li> <li>- Uvéite antérieure (1-8,2 %)</li> </ul>	Ciaramella <i>et al.</i> , 1997 ; Koutinas <i>et al.</i> , 1999 ; Shaw <i>et al.</i> , 2009 ; Slappendel, 1988 ; Solano-Gallego <i>et al.</i> , 2001b
Manifestations ostéo-articulaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Boiterie (1,3-37,5%) : polyarthrite érosive ou non érosive, ostéomyélite et polymyosite</li> </ul>	Koutinas <i>et al.</i> , 1999 ; Meléndez-Lazo <i>et al.</i> , 2018 ; Shaw <i>et al.</i> , 2009 ; Slappendel, 1988 ; Solano-Gallego <i>et al.</i> , 2001b
Manifestations plus rares	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Myosite des muscles masticateurs</li> <li>- Troubles vasculaires systémiques ou thromboembolisme artériel</li> <li>- Troubles neurologiques</li> </ul>	(Blavier <i>et al.</i> , 2001 ; Font <i>et al.</i> , 2004 ; Viñuelas <i>et al.</i> , 2001)

Plusieurs études ont permis de classer les signes cliniques par ordre de fréquence d'observation chez les chiens atteints de leishmaniose. Les manifestations dermatologiques sont présentes dans 56 à 89 % des cas, avec une prévalence de l'onychogryphose de 8 % à 30 %. Une altération de l'état général est signalée chez 70 % à 78 % des chiens, avec une hyperthermie observée chez 4 % à 36 % d'entre eux, une polyuro-polydipsie chez 3.8 à 40% des cas, et des troubles digestifs tels que diarrhée ou vomissements chez 3.8 % à 30 % des cas. L'adénomégalie, quant à elle, est présente chez 49 % à 90 % des chiens. Environ 32 % des cas présentent une insuffisance rénale, et des signes cliniques ophtalmologiques sont observés chez 10 % à 25,5 % des chiens atteints. L'épistaxis est rapportée dans 5 % à 15 % des cas, tandis que la boiterie concerne environ 1,3 % à 37,5 % des chiens atteints de leishmaniose (Ciaramella *et al.*, 1997 ; Koutinas *et al.*, 1999 ; Meléndez-Lazo *et al.*, 2018 ; Petanides *et al.*, 2008 ; Shaw *et al.*, 2009 ; Slappendel, 1988 ; Solano-Gallego *et al.*, 2001b).

Des cas présentant des signes cliniques moins fréquents ont également été répertoriés, notamment à travers des regroupements de rapports de cas (Blavier *et al.*, 2001) : 2 cas de polyarthrite érosive, 1 cas de dermatofibrose, 1 cas de péricardite fibrineuse avec épanchement péricardique (contenant de nombreux parasites intracellulaires associé à une forme viscérale atypique de leishmaniose), 2 cas de granulomes au sein des ventricules cardiaques, 2 cas de vascularites nécrosantes provoquant des hémorragies diffuses multi-organiques, 2 cas de thromboembolies (artérielle et de la veine cave caudale) associées à un syndrome néphrotique, 2 cas d'hyperviscosité sanguine secondaires à une hyperprotéinémie, 2 cas d'entérites hémorragiques fatales, et 1 cas de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). L'insuffisance rénale est l'une des principales complications de la leishmaniose chez le chien, mais elle ne constitue la seule manifestation clinique que dans 4 % des cas (Ciaramella *et al.*, 1997).

Dans certains cas, l'infection par *Leishmania infantum* n'entraîne pas le développement de signes cliniques. Les chiens infectés demeurent asymptomatiques. Certains individus sont susceptibles de ne présenter comme seule lésion qu'un « chancre d'inoculation » à l'endroit de la piqûre du phlébotome et provoqué par la multiplication *in situ* des leishmanies. Cette lésion se caractérise par un nodule cutané alopecique ulcéré et crouteux de 1 à 3 cm de diamètre, non prurigineux et modérément douloureux. Il est le plus souvent localisé au niveau de la truffe ou de la face interne du pavillon auriculaire. Il régresse spontanément en 4 à 8 mois et passe souvent inaperçu des propriétaires.

### **a. Manifestations systémiques**

- *Perte de poids*

La perte de poids souvent retrouvée chez les chiens atteints de leishmaniose est imputable à l'anorexie et aux vomissements souvent présents lors de la maladie et possiblement secondaires à une atteinte rénale, mais également à la compétition entre l'hôte et le parasite pour l'accès aux nutriments essentiels comme le tryptophane ou à une malabsorption intestinale (Saridomichelakis, 2009).

- *Diarrhée*

La diarrhée peut s'expliquer en partie par les lésions intestinales de type granulomateuses ou pyogranulomateuses retrouvées lors des formes cliniques de la maladie. Ces lésions peuvent conduire à une diarrhée chronique par malabsorption intestinale ou, dans certains cas, demeurer subcliniques (Saridomichelakis, 2009).

- *Adénomégalie*

En ce qui concerne l'adénomégalie, elle s'explique par une hypertrophie des zones corticales et des médullaires avec la présence de nombreux macrophages infectés. On notera que dans les stades avancés et notamment chez les chiens ne présentant pas d'atteinte rénale, on pourra observer au contraire une hypoplasie des nœuds lymphatiques (Giunchetti *et al.*, 2008 ; Koutinas *et al.*, 1999).

- *Splénomégalie*

La splénomégalie, souvent présente bien que rarement palpable est causée par la prolifération ou l'infiltration dans les pulpes rouges et blanches de cellules immunitaires conduisant à son hypertrophie. La charge parasitaire au sein du tissu est alors très importante, au point que la rate soit considérée comme un des organes clés permettant la survie à long terme des parasites (Engwerda et Kaye, 2000 ; Lima *et al.*, 2007).

- *Epistaxis*

De l'épistaxis peut être observé secondairement à des causes systémiques comme une thrombocytopénie, une thrombocytopathie, une hyperviscosité sanguine associée à une hyperglobulinémie, mais également à des causes locales comme une rhinite, des ulcérations nasales et une vascularite à dépôt d'immuns complexes. Ceci étant dit, les causes principalement retrouvées et considérées les plus fréquentes dans la littérature sont la thrombocytopathie, l'hyperviscosité sérique et l'inflammation des cavités nasales associées à la présence locale du parasite, qui peut ou non être accompagnée d'ulcérations et de vascularite à dépôt d'immuns complexes (Jüttner *et al.*, 2001 ; Petanides *et al.*, 2008).

### **b. Signes cutanés**

- *Dermatites*

Fréquemment rencontrées lors de leishmaniose cutanée, les dermatites peuvent être localisées, multifocales, diffuses et exfoliatives. Elles se caractérisent surtout par la présence de squames de grande taille, par une xérose cutanée accompagnée ou non d'hypotrichose-alopécie, d'érythème et d'hyperpigmentation (Papadogiannakis *et al.*, 2005)..

On retrouve également des formes de dermatite ulcéraives, nodulaires, prolifératives ou papuleuses (Saridomichelakis, 2009 ; Solano-Gallego *et al.*, 2009). La dermatite nodulaire se présente sous la forme de petits nodules sous-cutanés, non douloureux à la manipulation mesurant quelques centimètres de diamètre, ne devant pas être confondus avec les chancres d'inoculation.

De façon plus rare, on retrouvera des chiens présentant une dermatite pustuleuse, une dermatite de léchage, une dépigmentation nasale, une hyperkératose naso-digitée, une panniculite, une *alopecia aerata* ou un érythème multiforme (Koutinas et Koutinas, 2014a).

A l'examen histologique de ces lésions, on retrouve une inflammation granulomateuse ou pyogranulomateuse périvasculaire, interstitielle ou nodulaire liée à l'afflux de macrophages et au dépôt d'immuns complexes dans les différentes strates de la peau (Papadogiannakis *et al.*, 2005 ; Saridomichelakis *et al.*, 2007).

Ces lésions de dermatite peuvent se compliquer de pyodermites secondaires superficielles ou profondes avec souvent un développement important de *Malassezia pachydermatis* (Saridomichelakis, 2009 ; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

- *Onychogryphose*

L'onychogryphose est un signe d'appel fréquent de leishmaniose. L'analyse histopathologique de ces lésions montre une dermatite lichénoïde qui, de la même façon que l'hyperkératose naso-digitée peut être considérée comme une forme particulière de dermatite exfoliative (Koutinas et Koutinas, 2014a).

- *Atteinte des muqueuses*

De façon inconstante, les muqueuses des animaux atteints peuvent s'ulcérer. Elles présentent alors classiquement des pertes de substance en cupule avec une tendance à l'extension, un écoulement séreux à forte concentration parasitaire. Les muqueuses les plus classiquement touchées sont celles du pavillon interne de l'oreille, des coussinets plantaires, des cavités nasales, les muqueuses buccales et la muqueuse digestive (Koutinas et Koutinas, 2014a).

### **c. Signes oculaires**

- *Pathogénie*

La pathogénicité des signes oculaires peut être liée à une infiltration granulomateuse et lymphoplasmocytaire, au dépôt d'immuns complexes, à des lésions structurelles annexes telles qu'une atteinte de la paupière engendrant une conjonctivite secondaire, ou à une atteinte systémique. Dans ce dernier cas, il s'agit en particulier de lésions du fond d'œil (décollement rétinien ou hémorragies rétinienne) ou d'un hyphéma, secondaires à une hypertension artérielle systémique ou à une hyperviscosité sanguine (Saridomichelakis, 2009).

Ces atteintes peuvent concerner diverses structures comme les conjonctives, les corps ciliaires, le limbe, l'iris, la cornée, l'angle irido-cornéen, la sclère, la choroïde ou encore la gaine du nerf optique. Cette diversité de structures atteintes explique la pluralité des signes oculaires retrouvés : blépharite (exfoliative, ulcéraive ou nodulaire), conjonctivite nodulaire, kératoconjonctivite ou uvéite antérieure.

- *Kératoconjonctivite*

Dans certains cas, la kératoconjonctivite peut être le seul signe clinique associée à la leishmaniose et la raison de la présentation de l'animal chez le vétérinaire. Elle se manifeste par de la chassie, une sécheresse cornéenne avec ulcération voire une néovascularisation (Koutinas et Koutinas, 2014a). La littérature sur le sujet laisse supposer qu'elle résulte d'une destruction des glandes lacrymales et de Meibomius par une inflammation granulomateuse ou d'une obstruction des canaux lacrymaux par inflammation de proximité (Naranjo *et al.*, 2005).

- *Uvéite*

L'uvéite antérieure est une des affections oculaires les plus fréquemment rencontrées lors de la leishmaniose chez le chien et se caractérise par un œdème cornéen, un myosis, un dépôt de fibrine dans la chambre antérieure et de nombreux nodules au niveau de l'iris. Cette uvéite antérieure peut évoluer en glaucome voire entraîner une perte de vision.

#### **d. Autres signes cliniques**

- *Boiteries*

Le plus souvent, la boiterie rapportée chez les cas de leishmaniose chez le chien est due à une polyarthrite érosive ou non érosive, et moins probablement, elle est due à une ostéomyélite ou une polymyosite (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

Les boiteries d'origine musculaire sont causées par la présence d'amastigotes de leishmanies et le dépôt d'immuns complexes sur les myofibrilles. Cela entraîne une vascularite neutrophilique ainsi que la production d'auto-anticorps dirigés contre les fibrilles musculaires. Ces processus sont responsables d'une inflammation granulomateuse ou lymphoplasmocytaire qui conduit à une dégénérescence, une nécrose et une fibrose des myofibrilles. Ces mécanismes expliquent également les cas de myosite affectant les muscles masticateurs parfois observés (Vamvakidis *et al.*, 2000).

Les boiteries d'origine articulaire se manifestent le plus souvent sous la forme de monoarthrite ou de polyarthrite, causées par une inflammation lymphoplasmocytaire et granulomateuse qui affecte la membrane synoviale en raison de la présence d'amastigotes et du dépôt d'immuns complexes.

- *Troubles neurologiques*

L'atteinte du système nerveux central est rare et peut expliquer certains signes cliniques observés chez les chiens atteints de leishmaniose, tels que des changements de comportement, des crises convulsives, des signes cliniques évocateurs de méningite et des hémorragies spinales. Bien que ces signes cliniques aient été peu étudiés en raison de leur faible fréquence, ils ont été associés à une inflammation granulomateuse, une vascularite et le dépôt d'immuns complexes causés par la présence du parasite (Font *et al.*, 2004 ; Garcia-Alonso *et al.*, 1996 ; Viñuelas *et al.*, 2001).

- *Atteinte de l'appareil reproducteur*

Des cas d'orchite interstitielle lymphoplasmocytaire associés à une dégénérescence testiculaire secondaire, des cas d'épididymite histiolympocytaire, de prostatite chronique, de balanoposthite histioplasmocytaire et d'inflammation granulomateuse du pénis ont été décrits. Ces lésions sont associées à la présence locale de parasites au sein de l'appareil génital (Diniz *et al.*, 2005).

## D. Description des anomalies biologiques

Les principales anomalies de laboratoire retrouvées lors de leishmaniose sont regroupées dans le tableau suivant :

**Tableau 5. Principales anomalies de laboratoires retrouvées lors de leishmaniose chez le chien (LeishVet, 2022)**

<b>Anomalies de laboratoire</b>	
<b>Anomalies hématologiques et hémostatiques</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Anémie non-régénérative faible à modérée</li><li>- Leucocytose ou leucopénie : lymphopénie, neutrophilie, neutropénie</li><li>- Thrombocytopathie, thrombocytopénie</li><li>- Défaut de l'hémostase secondaire</li></ul>
<b>Anomalies biochimiques</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Hyperprotéïnémie</li><li>- Hyperglobulinémie</li><li>- Hypoalbuminémie</li><li>- Diminution du rapport albumine/globuline (Alb/Glob)</li><li>- Azotémie d'origine rénale</li><li>- élévation de l'activité des enzymes hépatiques</li><li>- Protéïnurie</li></ul>

### a. Anomalies hématologiques

- *Anémie*

L'anomalie hématologique la plus couramment observée chez les chiens atteints de leishmaniose est une anémie discrète à marquée, souvent normocytaire, normochrome et arégénérative. Elle est présente chez 50 % à 100 % des chiens atteints de leishmaniose (Keenan *et al.*, 1984 ; Koutinas *et al.*, 1999 ; Meléndez-Lazo *et al.*, 2018). Cette anémie est considérée comme multifactorielle, impliquant notamment des causes hémorragiques ou hémolytiques, les conséquences de l'insuffisance rénale par défaut de production d'érythropoïétine, une hypoplasie ou aplasie médullaire liée à une infiltration granulomateuse, ainsi qu'une altération de la fluidité membranaire des érythrocytes (Abreu *et al.*, 2011 ; De Luna *et al.*, 2000 ; Koutinas *et al.*, 1999). Il a également été observé que l'anémie est plus fréquente chez les chiens présentant une forme clinique de leishmaniose par rapport à ceux présentant une forme subclinique (Reis *et al.*, 2006 ; Ribeiro *et al.*, 2013).

- *Anomalies leucocytaires*

Il n'y a pas de consensus sur les anomalies observées sur le leucogramme des chiens atteints de leishmaniose. Certains auteurs estiment que les altérations leucocytaires sont rares (Amusategui *et al.*, 2003 ; da Costa-Val *et al.*, 2007 ; Ribeiro *et al.*, 2013), tandis que d'autres signalent la présence d'une neutrophilie (Ciaramella *et al.*, 1997) ou d'un leucogramme de stress (leucocytose neutrophilique et monocytose associée à une lymphopénie et éosinopénie) comme des anomalies fréquemment observées (Ciaramella *et al.*, 1997 ; Koutinas *et al.*, 1999 ; Slappendel, 1988). Une

étude menée en 2018 sur 132 chiens suggère qu'un leucogramme dans l'intervalle de référence est le résultat le plus courant, suivi de près par une leucocytose neutrophilique (23,5 % des cas). Cette observation peut s'expliquer par le stress souvent vécu par les chiens malades, sans oublier la composante inflammatoire de la maladie (Meléndez-Lazo *et al.*, 2018).

Bien que ces altérations soient rares, une anémie marquée, une éosinopénie, une lymphopénie et une monocytopénie ont été rapportées comme des anomalies récurrentes dans les troubles hématologiques associés aux formes cliniques marquées de la leishmaniose chez le chien (Nicolato *et al.*, 2013).

- *Troubles de la coagulation*

En ce qui concerne les plaquettes et les facteurs de coagulation, la thrombocytopénie a souvent été rapportée dans les cas de leishmaniose, bien que sa fréquence varie et soit généralement faible (Ciaramella *et al.*, 1997 ; da Costa-Val *et al.*, 2007 ; Freitas *et al.*, 2012 ; Manzillo *et al.*, 2013 ; Meléndez-Lazo *et al.*, 2018). La thrombopénie peut être d'origine auto-immune ou due à une production anormale de plaquettes par la rate (Cortese *et al.*, 2009 ; Manzillo *et al.*, 2006).

Les formes cliniques de la leishmaniose sont parfois associées à une diminution de la synthèse de facteurs de coagulation et à une augmentation de la fibrinolyse. Un allongement du temps de céphaline activée (TCA), et une augmentation des produits de dégradation du fibrinogène sont alors notés (Ciaramella *et al.*, 2005 ; Moreno, 1999).

Une hypercoagulabilité sanguine peut également être retrouvée et serait due à une perte d'antithrombine III chez les patients atteints de néphropathie avec perte de protéines ainsi qu'à l'hyperviscosité sanguine elle-même secondaire à l'hyperglobulinémie (Paltrinieri *et al.*, 2016).

Ces résultats suggèrent que les chiens atteints de leishmaniose sont sujets à des troubles de la coagulation. En association avec une éventuelle augmentation de la viscosité du sérum et une éventuelle composante d'inflammation vasculaire liée à des complexes immuns, ces troubles de la coagulation jouent un rôle important dans l'apparition d'une épistaxis (ou d'autres saignements) chez les chiens malades (Petanides *et al.*, 2008).

## **b. Anomalies biochimiques**

- *Electrophorèse des protéines sériques*

Les leishmanies sont à l'origine de réponses inflammatoires et immunitaires qui modifient les paramètres biochimiques. L'anomalie biochimique la plus couramment observée chez les chiens atteints de leishmaniose est une altération du ratio Albumine/Globuline (A/G), se caractérisant par une diminution de l'albumine (hypoalbuminémie) et une augmentation des globulines (hyperglobulinémie) (Ciaramella *et al.*, 1997 ; Freitas *et al.*, 2012 ; Koutinas *et al.*, 1999 ; Petanides *et al.*, 2008). Une analyse plus approfondie de l'électrophorèse des protéines sériques révèle fréquemment une hypoalbuminémie, une augmentation des alpha-globulines, la présence d'une gammopathie polyclonale ou oligoclonale, ainsi qu'une augmentation des beta-globulines (Almeida *et al.*, 2005 ; Paltrinieri *et al.*, 2010 ; Ribeiro *et al.*, 2013 ; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

L'hyperprotéinémie est corrélée à la gravité de l'atteinte clinique. L'hyperglobulinémie est due à la production d'anticorps dirigés contre les leishmanies et est corrélée à une hyperviscosité sanguine (Petanides *et al.*, 2008).

L'hypoalbuminémie est d'origine multiple : une baisse de la synthèse hépatique, l'inflammation chronique, des pertes rénales, des pertes intestinales et une malabsorption intestinale participent à sa présence.

- *Examen biochimique rénal*

Rarement présente au moment du diagnostic, une azotémie d'origine rénale est fréquente lors de leishmaniose (Freitas *et al.*, 2012 ; Koutinas *et al.*, 1999 ; Meléndez-Lazo *et al.*, 2018 ; Petanides *et al.*, 2008 ; Solano-Gallego *et al.*, 2001b).

L'atteinte rénale se caractérise également par une protéinurie d'origine glomérulaire traduite notamment par un ratio protéine urinaire/créatinine urinaire (RPCU) élevé (> 0,5). Ces paramètres sont quant à eux fréquemment présents au moment du diagnostic avec une protéinurie détectée jusque dans 85 % des cas (Koutinas *et al.*, 1999 ; Meléndez-Lazo *et al.*, 2018 ; Petanides *et al.*, 2008 ; Poli *et al.*, 1991 ; Slappendel, 1988). Cette protéinurie, d'abord asymptomatique, conduit à une diminution ou une hausse du débit de filtration glomérulaire qui entraîne une hypertension artérielle systémique favorisant à son tour les lésions rénales (Koutinas et Koutinas, 2014a).

Cette atteinte rénale est due au dépôt d'immuns complexes sur la membrane glomérulaire basale conduisant à une glomérulonéphrite, souvent mésangioproliférative ou membranoproliférative et secondairement tubulo-interstitielle, voire, dans de rares cas à de l'amyloïdose rénale. L'atteinte tubulaire est secondaire à l'atteinte glomérulaire et à l'inflammation causée par le dépôt des immuns complexes dans l'interstitium rénal et les membranes des tubules (Saridomichelakis, 2009).

Les manifestations cliniques d'une insuffisance rénale, potentiellement mortelle, peuvent parfois être les seuls signes cliniques observés chez un chien infecté (Ciaramella *et al.*, 1997). La maladie rénale progresse d'une protéinurie asymptomatique pour aboutir parfois à un syndrome néphrotique et une maladie rénale terminale, qui s'avère être la principale cause de mortalité chez les chiens atteints de leishmaniose. La protéinurie causée par l'atteinte rénale semble contribuer à la fonte musculaire, à la cachexie et pourrait aussi être une cause de thromboembolie (Koutinas *et al.*, 1999 ; Koutinas et Koutinas, 2014b).

Les différents degrés d'atteintes rénales décrits dans le cadre de leishmaniose sont classés selon les différents stades décrits par l'International Renal Interest Society (IRIS) en 2019.

- *Analyse urinaire*

A l'analyse urinaire, il sera courant de rencontrer une isosthénurie secondaire à l'atteinte tubulo-interstitielle, une protéinurie et un RPCU > 0,5 (Paltrinieri *et al.*, 2010 ; Solano-Gallego *et al.*, 2009). L'analyse du culot urinaire peut aussi révéler une bactériurie, une hématurie ou la présence de neutrophiles. Ces anomalies sont révélatrices d'une infection du tractus urinaire concomitante et/ou liée à la leishmaniose.

- *Examen biochimique hépatique*

Les anomalies biologiques hépatiques, traduites par une augmentation de l'activité des ALAT, des ASAT ou des PAL sont peu fréquentes (Ciaramella *et al.*, 1997 ; Meléndez-Lazo *et al.*, 2018). Dans quelques cas cependant, une insuffisance hépatique peut se mettre en place et être à l'origine d'une hypoalbuminémie et d'une hyperbilirubinémie (Torrecilha *et al.*, 2016).

L'atteinte hépatique est secondaire à une infiltration inflammatoire chronique granulomateuse liée à la présence de parasites dans les hépatocytes et dans les cellules de Kupffer et associée à une dégénérescence vacuolaire, à la nécrose des hépatocytes, puis à une fibrose, et plus rarement encore, à de l'amyloïdose (Rallis *et al.*, 2005).

### 3. Diagnostic

Le diagnostic de leishmaniose est souvent un défi pour le vétérinaire praticien en raison de la grande variété et de la faible spécificité des signes cliniques et des anomalies biologiques, en particulier en zone non endémique. Après l'étape d'orientation conditionnée par l'anamnèse, l'examen clinique et les premiers examens de laboratoires (examen biochimique, numération de la formule sanguine, électrophorèse des protéines sériques, analyse urinaire) avec les résultats décrits dans la partie précédente, le diagnostic de leishmaniose repose sur l'emploi de plusieurs techniques que l'on s'attachera à détailler dans cette partie.

#### A. Description des outils diagnostiques

##### a. Sérologie

La sérologie est un outil disponible et largement utilisé pour le diagnostic de leishmaniose (Solano-Gallego *et al.*, 2011). C'est un outil de diagnostic indirect permettant la mise en évidence de marqueurs de la réponse immunitaire de l'hôte à la suite du contact avec le parasite, ici les anticorps dirigés contre les leishmanies.

Il existe de nombreuses méthodes de sérologie pour la détection des anticorps anti-*Leishmania*, notamment l'ELISA (Enzyme-Linked Immunofluorescence Assay), l'IFAT (Immunofluorescent Antibody Test), l'immunochromatographie (tests rapides), le DAT (Direct Agglutination Test), le Western Blot. Les tests ELISA et IFAT (abrégé IF) sont les deux plus fréquemment utilisés, que ce soit à des fins diagnostique ou de recherche. Des tests sérologiques rapides sont aussi disponibles dans le commerce mais la sensibilité et la spécificité des test ELISA et IF (tests de laboratoire) est bien supérieure.

Les chiens présentant une forme clinique de leishmaniose sont presque toujours séropositifs tandis que les résultats sont plus variables chez les chiens présentant une forme subclinique.

- *Immunochromatographie (tests rapides)*

Les tests rapides permettent d'obtenir un résultat qualitatif uniquement. Ils sont largement disponibles auprès des vétérinaires praticiens sous forme de plusieurs kits qui utilisent d'uniques ou de multiples antigènes recombinants de leishmanies. Ces tests sont également bon marché et peu chronophages. La spécificité du test rapide le plus répandu (SpeedLeishK®) est proche de 100 %. Sa sensibilité en revanche ne s'élève qu'à 63 %, sachant que sur tous les tests rapides existants, la sensibilité varie entre 30 % et 70 % (Paltrinieri *et al.*, 2016). De ce fait, les tests rapides présentent un risque non négligeable de faux négatifs, et les résultats positifs se doivent d'être explorés par une sérologie quantitative *a minima* (Solano-Gallego *et al.*, 2014).

- *ELISA*

La spécificité du test ELISA est proche de 100 %. La sensibilité quant à elle varie en fonction de l'antigène cible mais s'étend de 92 à 98% sur tous types de cas confondus. Elle est comprise entre

94 et 100% sur les cas symptomatiques et entre 33 et 41 % sur les cas asymptomatiques (Mettler *et al.*, 2005 ; Solano-Gallego *et al.*, 2014).

- **IFAT**

La spécificité de l'IFAT est estimée à 98 % en zone endémique et 97 % en zone non endémique. Sa sensibilité est de 87 % tous cas confondus, de 90 % chez les chiens symptomatiques et de 31 % chez les chiens asymptomatiques (Adel *et al.*, 2016 ; Mettler *et al.*, 2005 ; Solano-Gallego *et al.*, 2014)

Les tests ELISA et IFA sont considérés comme étant les tests de référence pour la sérologie leishmaniose avec une bonne sensibilité et une excellente spécificité. Ils ont également l'avantage de donner des résultats quantitatifs tandis que les tests rapides ne fournissent qu'un résultat qualitatif. Il est également bon de noter que certains vaccins, dont l'utilisation est de plus en plus répandue en Europe, peuvent entraîner une augmentation basse à moyenne de la concentration sérique en anticorps anti-leishmaniose pouvant interférer avec le diagnostic sérologique (Paltrinieri *et al.*, 2016).

On peut noter qu'il existe des réactions sérologiques croisées, notamment avec *Trypanosoma cruzi*, un autre parasite intracellulaire. Cependant, ce micro-organisme n'est présent qu'en Amérique Latine et au Texas (Duprey *et al.*, 2006).

### **b. Examen cytologique**

Afin de visualiser directement des amastigotes de leishmanies, il est possible d'effectuer un examen cytologique à partir de prélèvements de moelle osseuse, rate, nœuds lymphatiques, peau ou calques cutanés. En pratique courante, il est conseillé de réaliser une aspiration de nœuds lymphatiques, moins invasif en première intention qu'un prélèvement de moelle osseuse ou de rate qui sera réservé aux examens de seconde intention. La cytologie cutanée peut être envisagée en cas de lésions cutanées permettant un calque (lésions ulcératives, nodules, papules). Ce type de prélèvement est également très peu invasif et peut permettre l'observation directe des amastigotes jusque dans 88% des cas (Michalsky *et al.*, 2007 ; Reis *et al.*, 2006).

La lame préparée peut être colorée avec différentes techniques de coloration telles que la coloration de Romanowsky, May-Grunwald-Giemsa ou RAL 555, et observée directement au microscope. Les stades amastigotes sont identifiables dans le cytoplasme des macrophages et parfois dans les granulocytes neutrophiles. Il est également possible d'observer des amastigotes en dehors des cellules, ce qui peut résulter de dommages cellulaires lors du prélèvement ou de la préparation de la lame. Les amastigotes ont généralement une longueur comprise entre 1 et 4 µm et une largeur de 1 à 2 µm. Ils présentent un noyau proéminent et un kinétoplaste. Cependant, l'observation cytologique du parasite est souvent décevante en pratique généraliste en raison de la faible quantité d'amastigotes présents dans le tissu prélevé, même dans les formes cliniques graves de la maladie (Baneth et Solano-Gallego, 2022).

Il est vivement recommandé de réaliser un examen cytologique en cas de suspicion clinique de leishmaniose car l'observation directe des amastigotes est diagnostique (avec une spécificité de 100 %). Cet examen présente un faible coût et nécessite un matériel facilement disponible. La sensibilité de l'examen dépend du stade clinique de la maladie (avec une sensibilité plus élevée dans les formes cliniques), de la qualité du prélèvement et de la préparation de l'échantillon, de l'expérience du manipulateur et du nombre de champs examinés au microscope

(Saridomichelakis *et al.*, 2005). En effet, la sensibilité de l'examen cytologique des ganglions lymphatiques et de la moelle osseuse peut atteindre entre 70 % et 100 % si un minimum de 1000 champs à l'huile à immersion sont examinés (Ciaramella *et al.*, 1997 ; Da Costa *et al.*, 1996). De plus, lorsque 100 champs sont examinés, les sensibilités pour un prélèvement de nœud lymphatique, de moelle osseuse ou de leur combinaison sont respectivement de 84%, 73% et 93%, et elles augmentent à 93 %, 88 % et 95 % respectivement lorsque 1000 champs sont examinés (Saridomichelakis *et al.*, 2005).

Ainsi, l'examen cytologique présente une bonne sensibilité et une excellente spécificité lorsqu'il est réalisé dans des conditions appropriées. Malgré cela, seuls 6 à 10% des vétérinaires exerçant dans les pays européens endémiques utilisent l'examen cytologique en routine lors de suspicion de leishmaniose et 65 % des vétérinaires français en zone endémique ne réalisent jamais d'examen cytologique cutané (Bourdeau *et al.*, 2014).

Il est tout de même bon de garder en tête que la charge parasitaire n'est pas toujours corrélée à l'importance des signes cliniques, notamment lors d'analyse cytologique sur moelle osseuse : certains chiens présentant une charge parasitaire élevée ne présentent pas d'anomalie clinique (Momo *et al.*, 2014).

### ***c. Examen histologique***

L'analyse histologique est une technique de diagnostic direct permettant la mise en évidence du parasite au sein d'échantillons de tissus prélevés sur les chiens. La mise en évidence par observation directe des amastigotes dans le tissu biopsié (peau ou autre organe) est souvent difficile. Elle n'en reste pas moins possible là où les colorations cytologiques de routine ont échoué, notamment grâce à l'utilisation complémentaires de techniques d'immunohistochimie telles que l'immunofluorescence (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

Les principaux inconvénients de l'analyse histologique par rapport aux autres techniques d'analyse (PCR, cytologie) sont qu'elle est plus chronophage et plus laborieuse. D'un autre côté, l'analyse histologique permet de donner plus d'informations sur l'architecture cellulaire générale des lésions, ce qui est un grand avantage diagnostique permettant de différencier les chiens chez qui la présence du parasite est associée à des lésions typiques de l'affection de ceux chez qui l'infection ne semble pas associée à une forme clinique de la maladie (Paltrinieri *et al.*, 2016).

Outre l'observation directe des parasites, l'analyse histologique montre souvent une inflammation granulomateuse, pyogranulomateuse ou lymphoplasmocytaire ainsi que des lésions de vascularite localisées dans les organes atteints. De nombreux tissus peuvent être sujets à une analyse histologique, on retrouve notamment les organes « classiques », pour lesquels la chance de détection est la plus élevée : la moelle osseuse, la rate, la peau et les nœuds lymphatiques, mais aussi d'autres tissus plus divers tels que le cœur, les poumons, le tractus génital, le système nerveux central, les muscles striés squelettiques, le tube digestif, les glandes lacrymales et les muscles oculaires (Dos Santos *et al.*, 2013 ; Figueiredo *et al.*, 2010 ; José-López *et al.*, 2012 ; Márquez *et al.*, 2013 ; Mir *et al.*, 2012 ; Naranjo *et al.*, 2012, 2010 ; Parpaglia *et al.*, 2007 ; Peña *et al.*, 2008 ; Rosa *et al.*, 2014 ; Ruiz *et al.*, 2015 ; Silva *et al.*, 2008, 2014).

Une variante de l'analyse histologique est l'immunohistochimie. Cette technique apparaît plus sensible et serait donc à privilégier dans le cadre de la démarche diagnostique. Sa sensibilité s'élève à 100 % sur les cas symptomatiques et à 76 % sur les cas asymptomatiques. Sa spécificité

quant à elle est de 100 % (Moreira *et al.*, 2007 ; Solano-Gallego *et al.*, 2009). En contrepartie de ses bons résultats, l'analyse immunohistochimique est longue et coûteuse, la rendant peu utilisée en pratique vétérinaire de routine.

#### **d. Amplification en chaîne par Polymerase Chain Reaction (PCR)**

La PCR est une technique permettant de mettre en évidence la présence du parasite en amplifiant une séquence d'ADN ou d'ARN de celui-ci à partir d'échantillons de tissus ou de liquide biologique. Un des avantages de la PCR est qu'elle peut être positive avant la période de séroconversion, permettant un diagnostic plus précoce que d'autres techniques. Il existe plusieurs techniques de PCR dont les plus utilisées sont la PCR conventionnelle, la PCR nichée et la PCR quantitative (qPCR).

La PCR, en particulier la qPCR, est couramment utilisée en pratique clinique, surtout lorsque les examens cytologiques et histologiques ne permettent pas d'obtenir un diagnostic concluant. Cette technique présente des avantages majeurs par rapport aux autres : elle se déroule en système fermé, ce qui limite la contamination de l'échantillon, elle présente une très bonne sensibilité, même sur un échantillon à faible charge parasitaire et elle donne un résultat quantitatif.

La PCR permet la détection directe de l'ADN parasitaire dans les tissus de l'animal infecté grâce à un prélèvement sanguin traditionnellement. Récemment, une analyse PCR sur écouvillons conjonctivaux a également été décrite (Ferreira *et al.*, 2008). Il existe de nombreuses séquences cibles utilisées pour le diagnostic de l'infection. La plupart des tests PCR actuels ciblent plusieurs séquences d'ADN simultanément, notamment des séquences codant pour la petite sous-unité du ribosome parasitaire ou des séquences d'ADN kinétoplaste (ADNk) qui semblent être plus sensibles pour détecter le parasite dans les tissus (Maia et Campino, 2008 ; Paltrinieri *et al.*, 2016). La sensibilité et la spécificité varient en fonction des prélèvements et des cibles utilisées. Cependant, la sensibilité globale est d'environ 90% et la spécificité d'environ 100% (Maia *et al.*, 2009).

#### **e. Culture parasitaire**

La culture parasitaire est une méthode permettant d'isoler les parasites et de faciliter leur identification. Cependant, cette technique est très chronophage, nécessitant environ un mois pour obtenir un résultat. Par conséquent, elle est principalement utilisée dans les laboratoires de recherche et n'est pas couramment utilisée en pratique clinique (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

### **B. Démarche diagnostique**

Les guidelines LeishVet (Solano-Gallego *et al.*, 2011) détaillent l'approche diagnostique faisant aujourd'hui consensus pour la recherche et la confirmation de la leishmaniose (figure 3).

La démarche diagnostique commence toujours par un examen clinique approfondi. Il est essentiel de garder à l'esprit que, même si un chien est suspecté de leishmaniose, il peut également être atteint d'une autre affection, infectieuse ou non, ce qui rend le diagnostic différentiel plus large. En cas de suspicion clinique ou de résultats d'analyse en faveur de la leishmaniose, on commence par réaliser un test sérologique rapide (s'il est disponible). Si ce test est positif, il est recommandé de faire une analyse sérologique ELISA ou IFAT pour quantifier la charge parasitaire. Si le test rapide est négatif, sa faible sensibilité rend le résultat incertain,

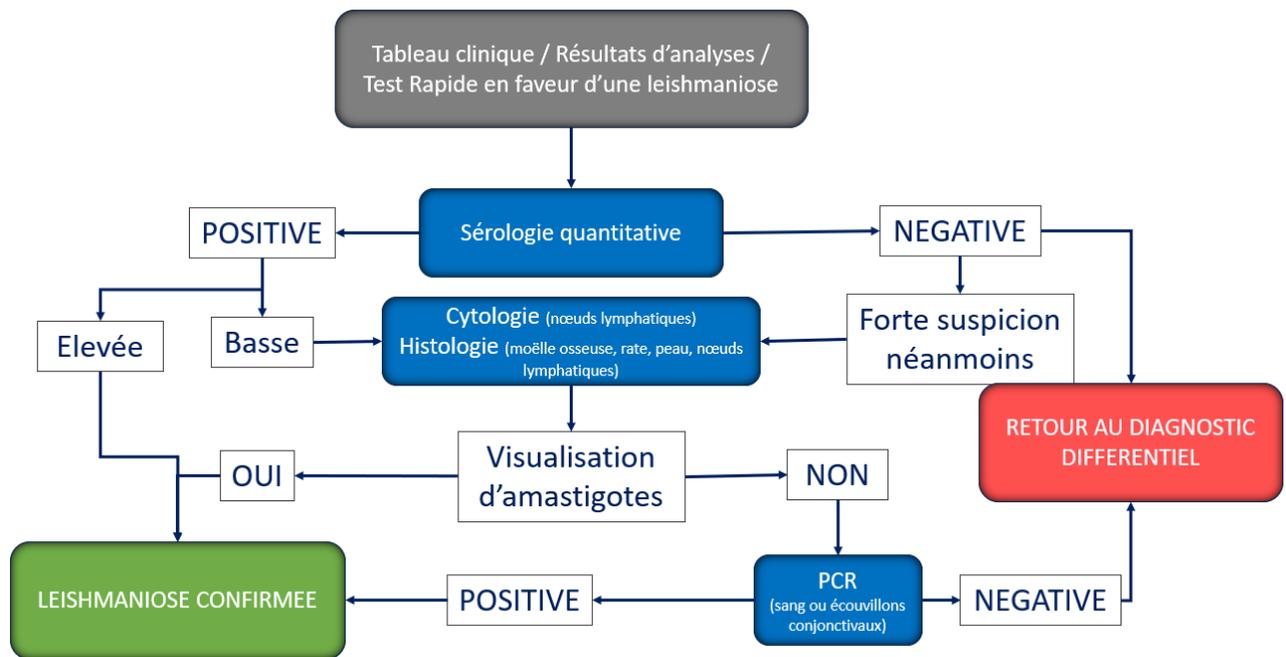
surtout en cas de forte suspicion clinique. Il est donc nécessaire de confirmer ou d'infirmier le diagnostic avec une analyse sérologique quantitative ELISA ou IFAT (Paltrinieri *et al.*, 2016 ; Solano-Gallego *et al.*, 2011).

Si l'analyse sérologique quantitative est positive et que le titre d'anticorps est élevé, on peut confirmer la leishmaniose chez le chien en question. Si la sérologie quantitative est positive mais que le titre d'anticorps est faible, il est nécessaire de poursuivre les investigations par une analyse cytologique ou histologique. La présence d'amastigotes dans les tissus prélevés permet d'établir de manière concluante un diagnostic de leishmaniose. En revanche, l'absence d'amastigotes n'est pas concluante et nécessite une dernière étape diagnostique, à savoir la PCR.

Dans ce contexte, une PCR positive confirme le diagnostic de leishmaniose. Une PCR négative suggère d'envisager d'autres pistes diagnostiques en revenant au diagnostic différentiel (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

Un arbre décisionnel incluant les différents tests à réaliser est donné en Figure 3.

**Figure 3. Démarche diagnostique en cas de suspicion clinique de leishmaniose (figure adaptée de Solano-Gallego *et al.*, 2011)**



### C. Stades de la maladie

Une fois le diagnostic de leishmaniose établi, il convient de lui attribuer un stade. Ce stade permettra par la suite une prise en charge thérapeutique optimale et un suivi individualisé. Il existe deux principaux systèmes de classification des stades de leishmaniose.

#### a. Classification par le groupe d'expert LeishVet (Solano-Gallego *et al.*, 2011)

La classification LeishVet se base sur le statut sérologique des animaux, des signes cliniques qu'ils présentent et de leurs atteintes hématologiques et biochimiques. Cette classification a pour

but d'aider le vétérinaire praticien à mettre en place un protocole thérapeutique et un suivi approprié à chaque cas. Un pronostic est par ailleurs associé à chaque stade.

- *Stade I : atteinte discrète*

Chez les chiens atteints de leishmaniose de stade I, la sérologie est négative à discrètement positive, les signes cliniques sont discrets (lymphadénomégalie périphérique ou dermatite papuleuse) et on retrouve rarement d'anomalie aux examens sanguins. Le profil rénal est normal avec notamment une absence de protéinurie (RPCU < 0,5).

Le stade I est associé à un bon pronostic.

- *Stade II : atteinte modérée*

Les chiens atteints de leishmaniose de stade II présentent une sérologie faiblement à fortement positive, des signes cliniques identiques au stade I auxquels peuvent s'ajouter des lésions cutanées diffuses ou symétriques telles qu'une dermatite exfoliative, une onychogryphose, des ulcérations (notamment au niveau de la truffe, des coussinets, des proéminences osseuses et des jonctions cutané-muqueuses), et des manifestations systémiques comme une anorexie, une perte de poids, une hyperthermie ou une épistaxis. Les anomalies sanguines retrouvées lors du stade II sont une anémie modérée non régénérative, une hyperglobulinémie, hypoalbuminémie ou un syndrome d'hyperviscosité sérique.

Le stade II est divisé en deux sous-stades : le **sous-stade a)** associé à un profil rénal normal (absence d'azotémie et absence de protéinurie et le **sous-stade b)** associé à une protéinurie avec un RPCU compris entre 0.5 et 1 mais une absence d'azotémie.

Le stade II est associé à un pronostic bon à réservé.

- *Stade III : atteinte marquée*

Lors du stade III de leishmaniose, on retrouvera une sérologie modérément à fortement positive, des signes cliniques identiques au stade II auxquels s'ajoutent des signes cliniques causés par le dépôt et l'accumulation d'immuns complexes : vascularite, arthrite, uvéite, glomérulonéphrite. Les anomalies sanguines retrouvées lors du stade III sont les mêmes qu'au stade II auxquelles s'ajoutent une maladie rénale chronique (MRC) de stade IRIS I avec un RPCU > 1 ou une MRC de stade IRIS II.

Le stade III est associé à un pronostic réservé à mauvais.

- *Stade IV : atteinte grave*

Le stade IV est considéré comme le stade le plus avancé de la maladie. Il est caractérisé par une sérologie modérément à fortement positive, des signes cliniques identiques au stade III auxquels peuvent s'ajouter une thromboembolie pulmonaire, un syndrome néphrotique et une maladie rénale terminale. Les anomalies sanguines retrouvées lors du stade IV sont identiques à celles du stade II auxquelles viennent s'ajouter une IRC stade IRIS III ou stade IV et/ou un syndrome néphrotique avec une protéinurie marquée (RPCU > 5). Le stade IV est associé à un mauvais pronostic.

Dans ce classement, une sérologie élevée est définie comme une valeur 3 à 4 fois supérieure à la borne supérieure de l'intervalle de référence du laboratoire effectuant le test.

### ***b. Classification par le Canine Leishmaniasis Working Group (CLWG) (Paltrinieri et al., 2010)***

Le système de classification proposé par le CLWG est basé sur 4 stades dont l'attribution repose sur des critères cliniques et des résultats d'analyses de laboratoire. Ce système a été conçu afin d'aider le vétérinaire praticien à juger de la gravité de l'atteinte. Il reste cependant moins utilisé que la classification LeishVet.

- *Stade A : animaux exposés*

Les animaux de la catégorie « exposés » sont asymptomatiques, présentent un faible titre sérologique ainsi qu'un résultat de PCR ou d'analyse cytologique négatif.

- *Stade B : animaux infectés*

Les chiens « infectés » sont également asymptomatiques et ne présentent aucune anomalie hématologique ou biochimique. Ils présentent en revanche un résultat d'analyse sérologique positif et le parasite a été mis en évidence par une technique de diagnostic direct (PCR, cytologie, histologie).

- *Stade C : malades*

Pour attribuer le stade « malade » à un chien, il est nécessaire d'avoir identifié le parasite par une technique de diagnostic directe (indépendamment du résultat de l'analyse sérologique), ou d'avoir obtenu un titre sérologique élevé. A ce stade, les animaux atteints présentent des signes cliniques compatibles avec une leishmaniose.

- *Stade D : gravement malades*

Les chiens « gravement malades » présentent des manifestations cliniques graves, telles qu'une néphropathie protéinurique. Ils peuvent également être affectés par des atteintes concomitantes, liées ou non à la leishmaniose, telles qu'une atteinte oculaire entraînant une perte de la fonction visuelle, une atteinte articulaire réduisant la mobilité et nécessitant un traitement immunosuppresseur, une co-infection, un processus néoplasique, une maladie endocrinienne ou une maladie métabolique. En outre, les chiens qui ne répondent pas favorablement aux traitements initiés sont également inclus dans cette catégorie.

## **4. Facteurs pronostiques**

La prise en compte des facteurs pronostiques est importante dans la discussion avec le propriétaire suivant l'établissement du diagnostic afin d'obtenir un consentement éclairé pour la mise en place ou non d'un traitement. Différents éléments cliniques et biologiques que nous verrons dans cette partie permettent d'affiner le pronostic et d'apporter des éléments de discussion avec les propriétaires.

### ***a. Survie***

Peu d'études se sont intéressées à décrire précisément le temps de survie attribuable aux chiens atteints de leishmaniose, notamment en zone non endémique où la pression de réinfection est considérablement moins forte qu'en zone endémique. Une étude de 2012 portant sur 72 chiens (traités et non traités) rapporte un temps de survie médian global de 4,3 ans (Geisweid *et al.*,

2012). Une autre étude de 2023 portant sur 44 chiens traités rapporte quant à elle un temps de survie médian de 6,4 ans (de Jong *et al.*, 2023). D'autres études, plus anciennes, décrivent une probabilité de survie pour un chien atteint de leishmaniose de 75 % 4 ans après l'initiation d'un traitement à base d'antimoniote de méglumine (Slappendel et Teske, 1997).

### **b. Atteinte rénale**

L'atteinte rénale semble être celle qui conditionne le plus le pronostic en cas de leishmaniose. En effet, elle est peu susceptible de s'améliorer, même avec un traitement adapté et constitue le principal motif d'euthanasie chez les chiens atteints. Une étude de Pereira *et al.* (2020) s'est penchée sur l'espérance de vie des chiens atteints de leishmaniose en fonction de leur stade IRIS. Les chiens atteints d'une maladie rénale de stade IRIS 1 ont une médiane de survie estimée à environ 4 ans, tandis que ceux atteints d'un stade IRIS 2 ont une médiane de survie d'environ 2,5 ans. En revanche, pour les chiens atteints d'une maladie rénale de stade IRIS 3 ou 4, la médiane de survie est d'environ 1 mois.

Pour les chiens qui ne présentent pas d'atteinte rénale à l'initiation du traitement contre la leishmaniose, l'espérance de vie peut dépasser 4 ans dans 75 % des cas, à condition qu'un traitement approprié soit administré (Slappendel et Teske, 1997). De plus, les chiens atteints d'une maladie rénale de stade IRIS 1 ou 2, une protéinurie persistante est associée à un plus mauvais pronostic qu'une protéinurie résolue après 4 à 6 semaines de traitement, même si la valeur absolue de protéinurie au diagnostic était supérieure. Ces données mettent l'accent sur l'importance du suivi cinétique de la protéinurie dans le traitement et le pronostic de la leishmaniose (Roura *et al.*, 2013).

Déterminer la valeur de la créatinémie et détecter la présence d'une protéinurie au moment du diagnostic semble être pertinent dans l'établissement du pronostic. En effet, ces deux valeurs seraient significativement associées négativement au temps de survie chez les chiens atteints de leishmaniose (de Jong *et al.*, 2023 ; Geisweid *et al.*, 2012).

### **c. Hypoalbuminémie**

La pertinence de la prise en compte d'une hypoalbuminémie au moment du diagnostic n'est pas clairement établie. Une étude de Geisweid *et al.* (2012) montre une association significative entre la présence d'une hypoalbuminémie précédant la mise en place d'un traitement et la survenue d'un décès lié à la leishmaniose, tandis qu'une autre étude de de Jong *et al.* (2023) ne trouve pas d'association significative entre ces deux facteurs malgré une valeur seuil d'hypoalbuminémie extrêmement proche (25 et 26 g/L).

### **d. Atteinte hématologique**

Les modifications de la numération de la formule sanguine pourraient également avoir une valeur prédictive. Après 4 semaines de traitement, les chiens présentant une anémie légère (hématocrite de 30-37 %) auraient une espérance de vie significativement plus longue que ceux présentant une anémie marquée (hématocrite < 20 %) au moment du diagnostic (2078 jours contre 136 jours). (Pereira *et al.*, 2020). Cependant, concernant la présence d'une anémie au moment du diagnostic chez des chiens non traités contre la leishmaniose, plusieurs études ne trouvent pas de lien entre ce paramètre et le temps de survie (de Jong *et al.*, 2023 ; Geisweid *et al.*, 2012 ; Pereira *et al.*, 2020).

#### **e. Protéine C réactive (CRP)**

La CRP pourrait être considérée comme un facteur pronostique négatif car elle est retrouvée en quantité anormalement augmentée chez les chiens présentant une mauvaise réponse au traitement. Cependant, plus d'études sont nécessaires avant de pouvoir évaluer plus précisément sa valeur pronostique.

#### **f. Infections concomitantes**

La présence d'une maladie infectieuse concomitante est également décrite comme un facteur pronostique négatif. Sans discrimination du type d'infection concomitante (ehrlichiose, brucellose ou rickettsiose), la survie des chiens atteints de leishmaniose seule est significativement plus longue que la survie des chiens atteints d'une autre infection (448 jours contre 1587 jours respectivement) (Pereira *et al.*, 2020).

#### **g. Stades de la maladie**

Le stade de la maladie peut également être utilisé comme un indicateur du pronostic, suivant la classification LeishVet (Solano-Gallego *et al.*, 2009) ou celle du CLWG ((Roura *et al.*, 2013).

Selon la classification LeishVet, le stade I est associé à un bon pronostic, le stade II à un pronostic favorable à réservé, le stade III à un pronostic sombre à mauvais et le stade IV à un pronostic mauvais.

Selon la classification du CLWG, le stade A est associé à un pronostic favorable, le stade B à un pronostic favorable à réservé en fonction de l'expression clinique ou non de la maladie ; le stade C est associé à un pronostic favorable à réservé et les stades D et E sont associés à un pronostic réservé à mauvais en fonction de l'atteinte rénale.

## **5. Traitement et prévention**

Il convient de souligner que les divers traitements et protocoles mis en œuvre visent à réduire la charge parasitaire, à améliorer l'immunité cellulaire chez les chiens atteints, à contrôler les signes cliniques et biologiques, à améliorer le confort et allonger l'espérance de vie, ainsi qu'à prévenir les rechutes cliniques et à diminuer l'infectiosité du chien envers les vecteurs (Ribeiro *et al.*, 2018). Toutefois, il est important de noter que la guérison totale, c'est-à-dire l'élimination complète du parasite de l'organisme des chiens atteints, reste encore utopique à l'heure actuelle (Noli et Saridomichelakis, 2014).

### **A. Description des différentes molécules**

#### **a. Allopurinol**

L'utilisation de l'allopurinol est extrêmement répandue en raison de son fort potentiel leishmaniostatique et de sa faible toxicité, qui le rend très efficace chez les chiens présentant des lésions rénales. Son principal effet secondaire est de favoriser la formation d'urolithiases de xanthine lors d'administration prolongée. Même sans autorisation de mise sur le marché (AMM), il est fréquemment utilisé en combinaison avec l'antimoniote de méglumine comme traitement de première ligne. Il peut également être utilisé en monothérapie chez les chiens asymptomatiques, ou en préventif (Morales-Yuste *et al.*, 2022 ; Noli et Auxilia, 2005 ; Torres *et al.*, 2011).

L'allopurinol est un analogue de l'hypoxanthine qui a pour action de bloquer la xanthine oxydase des parasites, responsable de la transformation de la xanthine en acide urique, perturbant ainsi le métabolisme des purines et aboutissant à une synthèse protéique anormale. Ce mode d'action est également responsable de son principal effet indésirable : la formation d'urolithiases de xanthine. La prescription d'une alimentation pauvre en purine et à teneur protéique modérée est donc primordiale en parallèle d'un traitement à l'allopurinol. Une analyse d'urine avec observation microscopique du culot urinaire doit également être réalisée à chaque contrôle afin de surveiller l'apparition d'une cristallurie (Guyonnet, A. *et al.*, 2016). En plus de cet effet sur le métabolisme des purines, une fois dans l'amastigote, l'allopurinol est transformé en 4-amino-pyrazole-pyrimidine qui est un composé toxique pour les leishmanies (Oliva *et al.*, 2010).

Aucune résistance à l'allopurinol n'était rapportée jusqu'à récemment, lorsque des études mettent en évidence une résistance au traitement associée à des rechutes cliniques de chiens leishmaniens traités par administration d'allopurinol, suggérant l'existence de souches résistantes de leishmanies. Compte tenu de l'utilisation massive de cette molécule, ces constats sont des plus alarmants concernant la propagation de la maladie et les options thérapeutiques (Yasur-Landau *et al.*, 2018, 2016).

### **b. Antimoniote de méglumine**

Malgré son importante toxicité rénale, l'antimoniote de méglumine fait partie de la première ligne de traitements leishmanicides, notamment dans les pays méditerranéens en association avec l'allopurinol. Cette molécule est utilisée chez l'Homme depuis plus de 50 ans mais est actuellement progressivement remplacée par l'amphotéricine B. Le mécanisme d'action de l'antimoniote de méglumine n'est pas totalement connu à l'heure actuelle mais il semblerait lié à une action sur l'ADN parasite et sur l'oxydation des acides gras, permettant une action leishmanicide. Son élimination majoritairement rénale entraîne une accumulation et donc une toxicité majorée chez les patients présentant déjà une maladie rénale. Le strict respect de la dose recommandée est par conséquent indispensable à une efficacité optimale en limitant les effets indésirables (Bianciardi *et al.*, 2009 ; Morales-Yuste *et al.*, 2022). Il a également été décrit des abcès cutanés et des lésions de cellulite en regard des sites d'injection (Guyonnet, A. *et al.*, 2016).

Récemment, certains auteurs étudient l'administration d'antimoniote de méglumine par nano-encapsulation, permettant une action de la molécule sur les parasites directement au sein des macrophages. Cette technique apparaît jusqu'à deux fois plus efficace dans la réduction de la charge parasitaire que le protocole d'administration standard (Dos Santos *et al.*, 2020 ; Ortega *et al.*, 2022).

Des résistances ont déjà été décrites chez le chien, notamment dans des régions endémiques (Algérie, France, Italie, Espagne) où l'utilisation d'antimoniote de méglumine est très répandue. L'apparition et la dissémination de souches de leishmanies résistantes à l'antimoniote de méglumine est une préoccupation de plus en plus pressante (Eddaikra *et al.*, 2018 ; Gómez Pérez *et al.*, 2016 ; Gramiccia *et al.*, 1992).

L'antimoniote de méglumine est le seul médicament pour le traitement de la leishmaniose possédant une AMM vétérinaire, commercialisé sous le nom de Glucantime®. Il doit donc réglementairement être utilisé en premier dans le cadre du respect de la cascade d'utilisation des médicaments vétérinaires.

### **c. Miltéfosine**

La miltéfosine est la première molécule anti-leishmanienne administrable par voie orale, permettant ainsi d'éviter les injections répétées. C'est une molécule utilisée à la fois pour ses propriétés anti-leishmaniennes et anti-cancéreuses. Son mode d'action serait majoritairement lié aux mécanismes apoptotiques et à la perturbation des voies de signalisation cellulaires lipides-dépendantes (Dorlo *et al.*, 2012). Elle est utilisée en monothérapie ou en bithérapie associée à l'allopurinol (Andrade *et al.*, 2011 ; Dias *et al.*, 2020 ; Iarussi *et al.*, 2020 ; Manna *et al.*, 2009 ; Miró *et al.*, 2009). Contrairement à son utilisation en bithérapie avec l'allopurinol, son efficacité en monothérapie est débattue. Selon certains auteurs elle serait limitée à une amélioration clinique sans être associée à une réduction significative de la charge parasitaire, en faisant une option thérapeutique peu appropriée aux zones endémiques dans lesquelles on cherche la plus grande diminution possible de la charge parasitaire afin de limiter la transmission vectorielle (Andrade *et al.*, 2011). Selon d'autres auteurs, l'utilisation de miltéfosine en monothérapie permettrait une réduction de plus de 98% de la charge parasitaire (Dos Santos Nogueira *et al.*, 2019). Ces différences pourraient être dues aux prélèvements biologiques : l'étude d'Andrade *et al.* utilisait des prélèvements de moelle osseuse tandis que celle de Dos Santos *et al.* utilisait des prélèvements de peau. En bithérapie l'utilisation combinée de miltéfosine et d'allopurinol semble être à la fois efficace, entraîne moins d'effets secondaires et présente une néphrotoxicité plus réduite que les autres protocoles de traitement (Bianciardi *et al.*, 2009 ; Miró *et al.*, 2009).

Les principaux effets secondaires du traitement à la miltéfosine sont dus à son action sur le tube digestif qui peut entraîner des nausées, une perte d'appétit, des diarrhées et vomissements. Ces effets, généralement de faible intensité, sont à régression spontanée en quelques jours/semaines. D'autres effets secondaires moins fréquents sont dus à une action rénale et hépatique et se traduisent par une augmentation transitoire de l'azotémie et de l'activité des enzymes hépatiques (ALAT et ASAT notamment) (Dorlo *et al.*, 2012).

Des résistances au traitement à la miltéfosine ont déjà été décrites chez le chien. Il semblerait de plus que le traitement à la miltéfosine combiné à l'allopurinol favorise le développement d'une résistance à l'amphotéricine B également, qui est une molécule de plus en plus utilisée dans le traitement de la leishmaniose en médecine humaine, rendant son utilisation chez l'animal controversée (Gonçalves *et al.*, 2021).

La miltéfosine, très utilisée dans d'autres pays européens, ne possède pas d'AMM en France et ne peut donc pas être prescrite chez l'animal (sauf après autorisation de l'Agence Nationale du Médicament Vétérinaire, à la suite d'une demande argumentée par le vétérinaire traitant). Son usage est réservé strictement au traitement de la leishmaniose humaine. Elle est cependant utilisée chez le chien de façon courante dans d'autres pays endémiques de leishmaniose dont la législation sur le sujet est plus souple, tels que la Grèce, l'Italie, l'Espagne et le Portugal à la place de l'antimoniote de méglumine (Solano-Gallego *et al.*, 2009). En raison des résistances rapportées et de son efficacité prouvée chez l'Homme, son usage chez l'animal doit être bien réfléchi et argumenté.

### **d. Paromomycine/Aminosidine**

La paromomycine est un antibiotique aminoglycoside possédant une activité anti-leishmanienne. Son mécanisme d'action est encore peu décrit mais semble cibler les mitochondries. Certaines études ont également rapporté une interaction avec les sous-unités 30S et 50S des ribosomes, bloquant ainsi la synthèse protéique parasitaire (Hirokawa *et al.*, 2007).

L'utilisation de paromomycine en association à l'allopurinol est un protocole de traitement de seconde ligne dont l'efficacité a montré des résultats inférieurs à équivalents au protocole de traitement associant antimoniate de méglumine et allopurinol, mais également une moindre toxicité (Kasabalis *et al.*, 2020, 2019 ; Miret *et al.*, 2021). En raison de son élimination par voie rénale, son utilisation n'est pas conseillée chez les chiens dont la fonction rénale est affectée (Reguera, *et al.*, 2016).

#### **e. Amphotéricine B**

L'amphotéricine B est un macrolide très largement utilisé en cas d'infection fongique systémique. Elle montre une forte affinité pour un composant membranaire des leishmanies, s'y attachant et y formant de nouveaux pores conduisant à un déséquilibre ionique chez le parasite (Roberts *et al.*, 2003).

Cette molécule est très efficace chez l'Homme chez qui elle est utilisée en émulsion lipidique. Elle est moins utilisée chez le chien en raison de la surveillance rapprochée des paramètres rénaux nécessaire lors du traitement et de son administration par voie intraveineuse stricte. De plus, son efficacité chez le chien n'a pas été clairement démontrée, notamment en comparaison aux autres protocoles thérapeutiques (Hernández *et al.*, 2015 ; Lamothe, 2001 ; Oliva *et al.*, 1995).

#### **f. Marbofloxacin**

La marbofloxacin est une quinolone de III<sup>ème</sup> génération développée pour un usage vétérinaire exclusif. Elle est actuellement utilisée contre différents agents bactériens Gram positifs et Gram négatifs. La marbofloxacin inhibe la topoisomérase II bactérienne sans agir sur l'équivalent mammifère en raison de leurs différences structurales. La topoisomérase II des leishmanies possède une structure très proche des topoisomérases bactériennes, la rendant sensible à cette molécule. De plus, les quinolones possèdent des propriétés immunomodulatrices atténuant la synthèse de cytokines inflammatoires. Pour finir, les formes cutanées de leishmaniose sont souvent associées à des surinfections bactériennes, rendant pertinente l'utilisation d'une antibiothérapie (Rougier *et al.*, 2012, 2008). L'utilisation de marbofloxacin a également été décrite comme pertinente dans le traitement de chiens leishmaniens présentant déjà une altération de la fonction rénale ne permettant pas l'utilisation d'autres molécules à plus forte néphrotoxicité (Pineda *et al.*, 2017).

Bien que l'on manque encore de données in vivo sur l'efficacité comparée de la marbofloxacin par rapport aux autres traitements, une étude in vitro lui prêterait des capacités leishmanicides équivalentes à l'antimoniate de méglumine (Vouldoukis *et al.*, 2006).

#### **g. Dompéridone**

La dompéridone est une molécule anti-dopaminergique entraînant la production de prolactine qui stimule l'immunité cellulaire et freine l'immunité humorale de façon non spécifique. Elle peut être utilisée *per os* dans le traitement de leishmaniose, ainsi que dans la prévention du développement de forme clinique (Gómez-Ochoa *et al.*, 2009 ; Sabaté *et al.*, 2014).

Aucune étude ne s'est encore intéressée à la comparaison entre l'efficacité d'un protocole thérapeutique à base de dompéridone et l'efficacité des autres traitements. Ainsi à l'heure actuelle son utilisation n'est pas recommandée en première ligne dans le cadre de traitement de la leishmaniose.

## ***h. Conclusion***

Face aux résistances aux traitements émergents et à l'impact de plus en fort de la leishmaniose dans des territoires de plus en plus étendus, il devient d'une importance capitale de trouver de nouvelles stratégies de traitement. Dans cette optique, plusieurs approches immunomodulatrices sont actuellement envisagées et donnent des résultats prometteurs, bien qu'encore au stade expérimental (Cardoso *et al.*, 2022 ; Gonçalves *et al.*, 2019 ; Segarra *et al.*, 2017).

## **B. Protocoles thérapeutiques et suivi**

Le choix du protocole de traitement est basé sur l'évaluation du stade clinique de la maladie, établi par les Guidelines Leishvet qui font actuellement consensus (Solano-Gallego *et al.*, 2011). L'association d'allopurinol et d'antimoniote de méglumine est le traitement consensuel actuel en Europe et est considéré comme le plus efficace (Solano-Gallego *et al.*, 2009). Ces deux molécules auraient un effet synergique permettant de diminuer les doses à administrer ainsi que la durée du traitement, tout en diminuant le risque de rechute et en allongeant la période de rémission clinique (Miró et López-Vélez, 2018 ; Oliva *et al.*, 2010).

La réponse au traitement des chiens présentant une forme clinique de leishmaniose peut présenter des variations individuelles corrélées à la gravité de leur atteinte au moment de l'instauration du traitement. Les chiens ayant déjà une atteinte rénale présentent souvent une moins bonne amélioration (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

### ***a. Protocoles thérapeutiques recommandés en fonction du stade de la maladie***

- *Stade I*

Le protocole thérapeutique recommandé lors d'une leishmaniose de stade I peut consister en une unique surveillance ou, en l'administration d'allopurinol, d'antimoniote de méglumine ou de miltéfosine en monothérapie, en l'administration d'une bithérapie d'allopurinol et d'antimoniote de méglumine ou d'allopurinol et de miltéfosine.

Si une surveillance est choisie, il est important d'informer les propriétaires qu'en l'absence de traitement, 30 à 70 % des chiens infectés développent une forme clinique de la maladie dans les 2 à 3 ans suivant le diagnostic (Roura *et al.*, 2013).

- *Stade II*

Lors d'une leishmaniose de stade II, il est recommandé de mettre en place une bithérapie d'allopurinol et d'antimoniote de méglumine ou d'allopurinol et de miltéfosine.

- *Stade III*

Pour un chien atteint d'une leishmaniose de stade III, il convient de prescrire un traitement consistant en une bithérapie identique à la prise en charge d'un stade II et d'y ajouter un traitement de la maladie rénale associée en suivant les guidelines IRIS.

- *Stade IV*

En cas de leishmaniose de stade terminal, l'atteinte rénale est considérée trop importante pour permettre la mise en place d'un traitement comprenant de l'antimoniote de méglumine. Il est

conseillé dans ce cas de prescrire une monothérapie d'allopurinol et de traiter la maladie rénale associée en se référant aux guidelines IRIS.

Bien qu'elle ne soit pas conseillée dans les guidelines LeishVet, des travaux récents évoquent la possibilité d'utiliser la miltéfosine en association à l'allopurinol chez les chiens présentant une protéinurie au moment du diagnostic. L'association de ces deux molécules aurait en effet une action permettant une diminution significative de la protéinurie, intéressante chez les chiens souffrant d'une forte atteinte rénale (Proverbio *et al.*, 2016).

De la même façon, la marbofloxacin n'apparaît pas dans les guidelines LeishVet comme traitement de première intention. Des études montrent une relativement bonne efficacité clinique avec une amélioration clinique chez 70 % des chiens traités, dont 23,8 % de guérisons cliniques 51 jours après initiation du traitement, ainsi qu'une absence de détérioration des paramètres rénaux (Pineda *et al.*, 2017). Ces résultats suggèrent une pertinence de l'utilisation de la marbofloxacin chez les chiens présentant une atteinte rénale importante au moment du diagnostic, chez qui les options thérapeutiques sont limitées.

Les molécules à utiliser suivant le stade de leishmaniose sont synthétisées dans le Tableau 6.

**Tableau 6. Molécules de première ligne recommandées en association avec le stade de la maladie**

<b>Stade I</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>○ Aucun traitement</li><li>○ Allopurinol ou antimoniate de méglumine ou miltéfosine seuls</li><li>○ Allopurinol + antimoniate de méglumine</li><li>○ Allopurinol + miltéfosine</li></ul>
<b>Stade II</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>○ Allopurinol + antimoniate de méglumine</li><li>○ Allopurinol + miltéfosine</li></ul>
<b>Stade III</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>○ Allopurinol + antimoniate de méglumine</li><li>○ Allopurinol + miltéfosine</li></ul> <p>+ Traitement de la maladie rénale suivant les guidelines IRIS</p>
<b>Stade IV</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>○ Allopurinol seul</li></ul> <p>+ Traitement de la maladie rénale suivant les guidelines IRIS</p>

#### ***b. Doses recommandées***

Concernant les doses, les Guidelines Leishvet (Solano-Gallego *et al.*, 2011) décrivent également la dose pour chaque molécule considérée comme optimale dans le traitement de la leishmaniose.

- *Allopurinol*

La dose recommandée d'allopurinol est de 10 mg/kg par voie orale à administrer deux fois par jour pendant une période de 6 à 12 mois. Une prolongation du traitement de 2 à 3 semaines est conseillée si l'amélioration clinique est jugée insuffisante.

La décision d'arrêt du traitement à l'allopurinol doit se baser sur certains critères : 1) rémission clinique et biologique complète au minimum 1 an après le début du traitement 2) diminution marquée du titre sérologique 3) impossibilité de contrôler ou diminuer la xanthinurie avec une alimentation adaptée ou en adaptant la posologie de l'allopurinol si une cristallurie massive est remarquée. Certains chiens n'arrivent jamais au point où il est raisonnable d'arrêter le traitement à l'allopurinol et une administration à vie doit alors être envisagée (Solano-Gallego *et al.*, 2009 ; Torres *et al.*, 2011).

- *Antimoniote de méglumine*

Il est conseillé d'administrer l'antimoniote de méglumine à la dose de 75-100 mg/kg par voie sous-cutanée une fois par jour ou, idéalement, à la dose de 40-75 mg/kg par voie sous-cutanée deux fois par jour pendant 4 semaines.

- *Miltéfosine*

Concernant la miltéfosine, l'administration de 2 mg/kg par voie orale une fois par jour pendant 28 jours est considérée optimale.

Au vu des caractéristiques de chacune de ces molécules, elles peuvent être réparties en molécules de 1<sup>re</sup> ligne, 2<sup>nde</sup> ligne et 3<sup>ème</sup> ligne, telles que décrites dans le tableau ci-après :

**Tableau 7 : Principaux traitement conseillés contre la leishmaniose**

Utilisation	Molécule et posologie	Principaux effets secondaires	Source
<b>1<sup>re</sup> ligne</b>	Antimoniote de méglumine (75-100 mg/kg SID pendant 4-8 semaines) + Allopurinol (10 mg/kg BID pendant 6-12 mois)	Néphrotoxicité potentielle, abcès cutanés au lieu d'injection (antimoniote de méglumine)  Urolithiases de xanthine (allopurinol)	Denerolle et Bourdoiseau, 1999 ; Ikeda-Garcia <i>et al.</i> , 2007 ; Manna <i>et al.</i> , 2008
<b>2<sup>nde</sup> ligne</b>	Miltéfosine (2 mg/kg SID pendant 4 semaines) + Allopurinol (10 mg/kg BID pendant 6-12 mois)  Allopurinol (10 mg/kg BID pendant 6-12 mois)	Diarrhée, vomissements (miltéfosine), Urolithiases de xanthine (allopurinol)  Urolithiases de xanthine (allopurinol)	Manna <i>et al.</i> , 2009 ; Cavaliero <i>et al.</i> , 1999 ; Koutinas <i>et al.</i> , 2001 ; Pennisi <i>et al.</i> , 2005 ; Plevraki <i>et al.</i> , 2006)
<b>3<sup>ème</sup> ligne</b>	Amphotéricine B (0,5-0,8 mg/kg 2 fois par semaine pendant 2 mois)  Marbofloxacin (2 mg/kg SID pendant 1 mois)	Néphrotoxicité  Non décrit	Cortadellas, 2003 ; Lamothe, 2001  Rougier <i>et al.</i> , 2008

### **c. Suivi**

La grande majorité des chiens présentent une amélioration clinique significative au cours du premier mois de traitement. Considérant la persistance d'une charge parasitaire, même faible à l'issue du traitement, certains paramètres cliniques et biologiques vont demander un suivi plus ou moins fréquent au cours du traitement, puis toute la vie de l'animal même en cas d'arrêt de traitement. Ces paramètres et leur fréquence de suivi idéale sont décrits par (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

A l'issue du premier mois de traitement, puis tous les 3 à 4 mois pendant la première année suivant l'initiation du traitement, il est conseillé de réaliser un examen clinique complet, une numération de la formule sanguine, une électrophorèse des protéines sériques (optionnel), et une analyse d'urine complète incluant un RPCU.

Plus tard, si le chien présente une rémission clinique totale avec le traitement instauré, un suivi identique est recommandé tous les 6 mois ou *a minima* une fois par an.

Concernant la surveillance de la sérologie, il est inutile de la répéter avant 6 mois de traitement minimum. Cela étant dit, au bout de 6 mois de traitement, une surveillance sérologique régulière (tous les 6 mois ou une fois par an) permet de détecter plus précocement les rechutes, notamment après l'arrêt du traitement. Un titre sérologique doublé entre deux suivis doit être considéré comme un marqueur de rechute (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

A l'issue de chaque visite de suivi, il conviendra de recatégoriser l'animal en fonction du stade de la maladie qu'il présente à ce moment et d'adapter le traitement en fonction (Solano-Gallego *et al.*, 2009). En cas de mauvaise réponse au traitement ou de rechute clinique, il convient en premier lieu de vérifier l'observance du traitement auprès des propriétaires. Celui-ci est effectivement contraignant et son administration régulière peut engendrer une lassitude chez les propriétaires (Oliva *et al.*, 2010).

## **C. Mesures préventives**

Les phlébotomes sont les seuls et uniques vecteurs prouvés de *Leishmania infantum*. Les stratégies visant à réduire leur densité de population et leur fonction vectorielle sont donc primordiales dans la lutte contre la leishmaniose. De nombreux antiparasitaires sont actuellement disponibles en prévention de l'infection et deux vaccins sont actuellement commercialisés en Europe. Ces vaccins visent à réduire le risque d'infection et la gravité de la forme clinique. En Europe, l'usage de la vaccination semble plutôt considérée par une option de seconde ligne (Apostolopoulos *et al.*, 2018 ; Baxarias *et al.*, 2022).

### **a. Gestion du milieu de vie**

La gestion du milieu de vie est primordiale dans la prévention d'infection par la leishmaniose. En effet, une gestion adaptée permet de réduire considérablement le contact entre le vecteur et le chien (Ribeiro *et al.*, 2018).

Les mesures préventives comprennent principalement le fait de garder les chiens à l'intérieur pendant les périodes où les phlébotomes sont actifs (du crépuscule à l'aube) et de réduire la présence d'environnements propices à la formation de colonies de phlébotomes (comme des tas de bois, de grandes pierres à l'ombre, etc.) à proximité des chiens. Des moustiquaires peuvent également être mises en place (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

## **b. Antiparasitaires**

Les principaux antiparasitaires utilisés en Europe dans le cadre de la prévention d'infection par les leishmanies sont la deltaméthrine et la perméthrine (pyréthriinoïdes), utilisés en colliers ou sous forme de pipette à application externe. On retrouve également la fluméthrine et la tétraméthrine. Leur efficacité contre les phlébotomes est démontrée et réside dans la diminution du risque de morsure de phlébotome, que ce soit chez les chiens sains ou chez les chiens déjà infectés (Baxarias *et al.*, 2022 ; Gavgani *et al.*, 2002 ; Maroli *et al.*, 2001 ; Otranto *et al.*, 2007).

L'association de perméthrine et d'imidaclopride possède une action synergique permettant de repousser les phlébotomes et procurant donc un effet protecteur contre le risque de morsure.

- *Spot-on*

Les formulations spot-on procurent une protection durant environ 3 semaines. Le traitement doit être donné au minimum 2 jours avant un voyage en zone endémique, ou renouvelé toutes les 3 semaines pour les chiens résidents dans ces zones (Miró *et al.*, 2007 ; Solano-Gallego *et al.*, 2011).

Les principales formules spot-on possédant une AMM française pour la prévention contre la leishmaniose sont Advantix® (imidaclopride + perméthrine) de Bayer, Vectra 3D® (dinotéfurane, pyriproxifène et perméthrine) de Ceva, Effitix® (fipronil et perméthrine) de Virbac et Frontline tri-act® (fipronil et perméthrine) de Merial.

- *Colliers*

Les antiparasitaires sous forme de colliers permettent de repousser les phlébotomes et donc de limiter leur occasion de repas sanguin durant 5 à 6 mois. Le collier doit être remplacé tous les 5-6 mois pour les chiens vivant en zone endémique et doit être mis en place au minimum 1 à 2 semaines avant un voyage en zone endémique (Killick-Kendrick *et al.*, 1997 ; Solano-Gallego *et al.*, 2011).

Les principaux colliers possédant une AMM française pour la prévention contre la leishmaniose sont Scalibor® (deltaméthrine) de MSD et Seresto® (imidaclopride + fluméthrine) de Bayer.

- *Spray*

Les antiparasitaires sous forme de spray présentent l'avantage d'être efficaces dès leur application. L'inconvénient est qu'ils ont une durée d'action plus courte que les administrations spot-on ou les colliers. Aucun spray ne possède d'AMM français pour la prévention contre la leishmaniose.

Les principaux produits antiparasitaires disposant d'une AMM française pour la prévention contre la leishmaniose sont repris dans le Tableau 8.

**Tableau 8. Principaux antiparasitaires possédant une AMM française pour la prévention contre la leishmaniose**

Mode d'application	Nom déposé	Principe actif	Laboratoire
Spot-on	Advantix®	Imidaclopride, perméthrine	Bayer
	Vectra 3D®	Dinotéfurane, pyriproxifène,	Ceva

		perméthrine	
	Effitix®	Fipronil, perméthrine	Virbac
	Frontline tri-act®	Fipronil, perméthrine	Merial
Collier	Scalibor®	Deltaméthrine	MSD
	Seresto®	Imidaclopride, fluméthrine	Bayer
Spray			

### c. Vaccination

Il est bien établi qu'un vaccin anti-leishmaniose doit induire une réponse à immunité cellulaire, spécifique et de longue durée chez le chien. Les vaccins à base de fraction purifiées de *Leishmania* semblent être les plus efficaces et les plus prometteurs. On y retrouve les vaccins de type FML (fucose mannose ligand), ceux contenant la protéine recombinante A2 que l'on retrouve commercialisés au Brésil, ceux contenant la protéine recombinante Q, dont Letifend®, et les vaccins de type antigène excrété et purifié à partir d'un milieu de culture, tels que le vaccin CaniLeish® qui possède une AMM européenne (Lemesre *et al.*, 2007 ; Palatnik-de-Sousa *et al.*, 2008 ; Solano-Gallego *et al.*, 2011).

- *Vaccins disponibles en France*

Le vaccin le plus récent disposant d'une AMM française contre la leishmaniose est commercialisé sous le nom de Letifend® et fait son apparition sur le marché en 2018. Il contient la protéine recombinante Q, protéine chimérique formée par la fusion de cinq fragments antigéniques de protéines ribosomales et ne contient pas d'adjuvant. L'administration de ce vaccin permettrait de diviser par 9.8 le risque d'incidence des signes cliniques et par 3.5 le risque de portage parasitaire. Il aurait ainsi une efficacité de 72 % dans la protection contre le développement d'une forme clinique de leishmaniose. L'absence d'adjuvant dans sa formulation lui confère également une très bonne innocuité (Fernandez *et al.*, 2018).

CaniLeish® est un vaccin contenant des antigènes de leishmanies excrétés et purifiés à partir d'un milieu de culture qui possède une AMM française et européenne depuis 2011. Ce vaccin est relativement bien toléré mais entraîne tout de même 6,4% de réactions indésirables telles qu'une réaction anaphylactique immédiate ou des troubles digestifs dans les jours suivant l'injection (Montoya *et al.*, 2021).

- *Limites à l'utilisation des vaccins*

L'augmentation de l'utilisation de la vaccination contre la leishmaniose dans les zones endémiques pose de nouveaux défis en matière de diagnostic et de gestion de la maladie. En effet, il n'existe aujourd'hui pas d'outil diagnostique fiable permettant de faire la différence entre un chien vacciné par le vaccin CaniLeish® et un chien infecté naturellement par la leishmaniose (Solano-Gallego *et al.*, 2017). Ceci souligne l'importance critique à apporter au dépistage de la leishmaniose avant la vaccination. Le producteur de CaniLeish® propose d'effectuer le dépistage pré-vaccination des animaux à l'aide du test rapide SpeedLeishK® (du même producteur que CaniLeish®), mais il

s'avère que celui-ci ne semble pas présenter une précision suffisante pour en faire un bon outil de dépistage, ce qui pourrait conduire à la vaccination de chiens préalablement infectés. Les tests de référence à utiliser dans ce cadre de dépistage semblent à l'heure actuelle être l'ELISA quantitatif et l'IF. Le pic d'anticorps maximal est détecté dans les 2 semaines suivant la fin de la primo-vaccination et persiste 4 à 12 mois avant de décroître progressivement (Solano-Gallego *et al.*, 2017, 2014).

Concernant le vaccin Letifend®, la différenciation entre les chiens vaccinés et les chiens infectés naturellement est possible par la grande majorité des tests sérologiques (ELISA, IFA ou SpeedLeishK® notamment), rendant son utilisation intéressante notamment en région endémique (Solano-Gallego *et al.*, 2017).

#### ***d. Autres alternatives***

L'utilisation des antiparasitaires insecticides pose des problèmes majeurs, notamment en termes de toxicité environnementale et de développement de résistances au sein de la population de phlébotomes lors d'une utilisation prolongée. Afin de faire face à ces problématiques, l'utilisation de produits naturels à base de plantes, tels que les huiles essentielles de citron vert, d'ail ou d'eucalyptus, a été proposée pour repousser les phlébotomes. Cependant, leur efficacité s'est révélée modérée à insuffisante, et leur durée d'action trop courte pour présenter un intérêt pratique (Pugliese *et al.*, 2021).



# Deuxième partie : étude rétrospective

---

## 1. Introduction

La leishmaniose est une affection protéiforme chez le chien dont le traitement peut permettre une réduction, voire une disparition des signes cliniques, mais ne permet pas l'élimination complète du parasite. De ce fait, un chien atteint de leishmaniose est à risque de présenter des rechutes cliniques à tout moment de sa vie et son pronostic s'en trouve affecté.

Lorsqu'un chien est atteint de leishmaniose, le propriétaire souhaite généralement connaître l'espérance de vie de son animal ainsi que l'évolution de son état clinique à court et moyen terme. Pour répondre à ces questions, le vétérinaire s'appuie sur des facteurs pronostiques.

Une étude rétrospective fondée sur les cas de leishmaniose chez les chiens présentés au ChuvA a ainsi été réalisée avec 2 objectifs :

- Décrire la présentation épidémiologique et clinique des chiens atteints de leishmaniose présentés au ChuvA et discuter des potentielles différences observées avec la présentation épidémiologique et clinique rapportée dans la littérature des chiens atteints de leishmaniose en zone endémique,
- Décrire le suivi à moyen et long terme des chiens atteints de leishmaniose et identifier des expositions associées à la durée de survie et à l'évolution clinique.

## 2. Matériels et méthodes

### A. Population de l'étude

#### *a. Population source et population cible*

La population source de notre étude est l'ensemble des chiens atteints de leishmaniose présentés au ChuvA entre le 1<sup>er</sup> janvier 2010 et le 16 mars 2023, répondant aux critères d'inclusion détaillés dans le paragraphe suivant (I.A.2).

La population cible de l'étude est l'ensemble des chiens atteints de leishmaniose présentés dans une clinique vétérinaire en zone non endémique.

#### *b. Critères d'inclusion*

Les critères d'inclusion des chiens dans l'étude descriptive des chiens atteints de leishmaniose étaient :

- Avoir été présenté au ChuvA entre le 1<sup>er</sup> janvier 2010 et le 16 mars 2023 ;
- Être atteint de leishmaniose ; le diagnostic étant basé sur l'obtention d'une analyse sérologique fortement positive ou d'un examen direct (par PCR, cytologie ou histologie) positif, associé ou non à une analyse sérologique positive.

- La date du diagnostic de leishmaniose doit être connue, ainsi que la date d'initiation du traitement et les molécules utilisées ;
- Pour être inclus dans l'étude de la survie et de la rémission, les chiens inclus devaient : être restés en vie durant les 14 premiers jours après la mise en place du traitement contre la leishmaniose. Ce critère permet d'exclure de l'étude les chiens euthanasiés directement à la suite du diagnostic ou les décès précoces liés à un diagnostic tardif.

### ***c. Méthode de sélection***

Les cas ont été sélectionnés parmi une liste de 770 cas obtenue après avoir cherché le mot « leishmaniose » dans au moins une conclusion de compte-rendu médical et la présence d'une ligne de facturation « sérologie leishmaniose » grâce à l'outil de recherche de CLOVIS, logiciel utilisé au ChuvA pour le suivi des animaux.

Parmi ces 770 cas, 688 cas n'étaient pas atteints de leishmaniose, 27 cas ont été présentés pour second avis et leur dossier médical ne contenaient pas les informations nécessaires à leur inclusion dans l'étude, 4 cas présentaient un dossier rempli de façon trop incomplète pour être inclus dans l'étude. Il découle de cette sélection que l'étude descriptive se base sur un échantillon de 51 cas.

Concernant l'étude de survie spécifiquement, 9 cas sont décédés dans les 14 jours suivant la mise en place du traitement et ont donc été exclus. L'étude de survie est donc basée sur 42 cas.

## **B. Recueil des données**

Les données extraites des dossiers médicaux récupérés sur le logiciel CLOVIS ont été répertoriées sur le logiciel Microsoft Excel® sous forme de variables quantitatives ou qualitatives.

Les informations manquantes ont pu être obtenues en contactant les propriétaires par téléphone ou par courrier électronique. Un consentement écrit ou oral était obtenu avant tout questionnement. Toutes les données manquantes ont pu être recueillies entre le 26 et le 28 juillet 2023.

Quarante-trois propriétaires ont été contactés par courrier électronique ou appel téléphonique afin de compléter les informations contenues dans le dossier médical de leur chien, notamment concernant l'étude de survie. Trente-trois propriétaires (76,7 %) étaient joignables et ont accepté de participer à l'étude, 7 propriétaires n'ont pas répondu car le contact renseigné sur le dossier CLOVIS de l'animal n'était plus à jour et 3 propriétaires ont été contactés mais n'ont pas donné de réponse à la date de point de l'étude (28/07/2023). Ces 10 animaux ont été censurés dans l'étude de survie à la date des dernières nouvelles obtenues.

### ***a. Données relatives au signalement***

Pour chaque chien, la date de naissance, le sexe, le statut stérilisé ou non, la race et le poids ont été répertoriés. L'âge était calculé à partir de la date de naissance et de la date de diagnostic.

Compte-tenu des données de la littérature, nous avons regroupé les chiens par catégorie d'âge : les chiens âgés de moins de 3 ans, les chiens âgés d'entre 3 et 8 ans et les chiens de plus de 8 ans.

### **b. Données cliniques relatives à la leishmaniose**

La date du diagnostic correspond à la date de l'analyse ayant permis d'établir le diagnostic de leishmaniose.

Dans notre étude, les manifestations cliniques de la leishmaniose étaient classées en grands groupes, correspondant aux principaux types de signes cliniques décrits dans la littérature : les manifestations systémiques dont les troubles digestifs (diarrhée et vomissements), l'hyperthermie et la polyuropolydipsie (PUPD), les signes cutanés dont l'onchogryphose, les signes ophtalmologiques, les signes neurologiques, la présence de diathèse hémorragique définie comme l'émission de sang par un orifice corporel, et la présence d'affections ostéo-articulaires ou musculaires. La collecte de ces informations dans le dossier médical provient à la fois du recueil des commémoratifs, de l'anamnèse et de l'examen clinique du chien lors de sa consultation au ChuvA.

Le stade de leishmaniose est établi suivant la classification du groupe d'experts Leishvet (Solano-Gallego *et al.*, 2011) à partir des données recueillies dans le dossier médical CLOVIS de chaque animal. Les examens complémentaires utilisés pour l'établissement du stade de leishmaniose lors de la présentation initiale ont été réalisés avant la mise en place d'un traitement spécifique de la leishmaniose et au maximum 2 jours après leur présentation initiale au ChuvA.

### **c. Données relatives à l'examen héματο-biochimique**

Lorsqu'une numération de la formule sanguine était réalisée, l'animal était considéré anémié lorsque son hématoците était strictement inférieur à 30% ou que son hémoglobémie était strictement inférieure à 13 g/dL. On considérait la présence d'une thrombopénie lorsque sa numération plaquettaire était strictement inférieure à 151 000 cellules/ $\mu$ L et que le frottis sanguin ne révélait pas d'amas plaquettaire.

Lorsqu'une analyse urinaire était réalisée, un animal était considéré protéinurique lorsque son rapport protéinémie urinaire sur créatinémie urinaire (RPCU) était strictement supérieur à 0,5 et/ou que son analyse de bandelette urinaire témoignait d'une protéinurie supérieure ou égale à 2 croix (++)).

Lorsqu'une évaluation de la créatinémie sérique était réalisée, un animal était considéré modérément azotémique lorsque la valeur de la créatinémie était strictement supérieure à 15 mg/L mais inférieure ou égale à 50 mg/L et fortement azotémique lorsque la valeur de la créatinémie était strictement supérieure à 50 mg/L. Tous les animaux présentant une créatinémie strictement supérieure à 15 mg/L étaient considérés azotémiques.

Lorsqu'une évaluation de l'albuminémie était réalisée, on considérait la présence d'une hypoalbuminémie lorsque la valeur de l'albuminémie était inférieure à 30 g/L.

Lorsque l'évaluation de la protéinémie était disponible, on considérait la présence d'une hyperprotéinémie lorsque la valeur de protéinémie était strictement supérieure à 71 g/L.

Lorsque les valeurs étaient disponibles, on définissait une hyperglobulinémie comme une valeur de globulinémie strictement supérieure à 44 g/L.

Lorsque les données étaient disponibles, un rapport albumine sur globuline était considéré diminué lorsque sa valeur était strictement inférieure à 0,6.

Lorsqu'une analyse sérologique pour la détection d'anticorps dirigés contre la leishmaniose était réalisée, le résultat était considéré modérément positif lorsque sa valeur était strictement supérieure à la limite supérieure de l'intervalle de référence (LSIR) mais inférieure ou égale à 3 fois la LSIR (valeur comprise entre 7,0 et 21,0 pour le test ELISA et entre 1/100 et 1/300 pour le test IF). Le résultat était considéré fortement positif lorsque sa valeur était strictement supérieure à 3 fois la limite supérieure de l'intervalle de référence du test utilisé (strictement supérieur à 21,0 pour le test ELISA et strictement supérieur à 1/300 pour le test IF).

Lorsque les données sont présentes dans le dossier médical de l'animal, les valeurs des activités des Phosphatases Alcalines (PAL) et des Alanines Aminotransférases (ALAT) était considérées augmentées lorsque les valeurs étaient strictement supérieures à la limite supérieure de l'intervalle de référence du test utilisé.

#### ***d. Données relatives au traitement***

La date d'initiation du traitement spécifique contre la leishmaniose était notée pour chaque animal, ainsi que les molécules utilisées. Dans ces traitements spécifiques, on a distingué l'utilisation de 6 protocoles différents :

- Allopurinol seul
- Allopurinol + antimoniate de méglumine
- Allopurinol + miltéfosine
- Miltéfosine seule
- Antimoniate de méglumine seul
- Aucun traitement

Lorsqu'aucun traitement n'est donné, la date de « début de traitement » est la date de diagnostic de leishmaniose.

#### ***e. Données relatives à la réponse au traitement***

La réponse au traitement a été évaluée en fonction du stade de leishmaniose aux différents temps de suivi de l'animal. On définissait T0 comme la date de début de traitement, T1 comme la date de la première consultation de suivi et T2 comme la date de la seconde consultation de suivi.

L'intervalle T0-T1 était en médiane de 33 jours ([27 ; 42] jours). L'intervalle T0-T2 était en médiane de 189 jours ([82 ; 358] jours). L'intervalle T1-T2 était en médiane de 140 jours ([49 ; 250] jours).

- Une rémission était considérée complète lorsqu'un animal en stade 2, 3 ou 4 de leishmaniose passait en stade 1 lors de la consultation de suivi à T1 et T2 ;
- Une rémission était considérée partielle lorsqu'un animal initialement en stade 3 de leishmaniose passait en stade 2 ou qu'un animal en stade 4 passait en stade 2 ou 3 lors de la consultation de suivi à T1 ou T2 ;
- La maladie était considérée stable lorsque le stade était identique lors de la consultation de suivi ;

- La maladie était considérée progressive lorsque l'animal passait dans un stade supérieur lors de la consultation de suivi ;
- La maladie était considérée en rechute lorsque l'animal passait dans un stade supérieur lors de la consultation suivante, après une période de rémission partielle ou complète.

Le traitement au long cours de la maladie étant très majoritairement réalisée chez le vétérinaire traitant, il a été décidé d'étudier l'évolution de la maladie uniquement sur les deux consultations de suivi suivant la présentation initiale de l'animal.

#### ***f. Données relatives au décès***

La date de décès a été relevée dans le dossier médical CLOVIS de chaque animal. Lorsque celle-ci n'était pas disponible sur le dossier médical, le propriétaire a été contacté. Lorsque la date n'était pas précise, la date de décès choisie par défaut était le quinze du mois en question ou le quatorze pour le mois de février. Lorsque le propriétaire n'a pas pu être contacté ou que le chien était toujours vivant à la date de point (28/07/2023), l'animal a été censuré à la dernière date où il était connu vivant, ou à la date de point respectivement.

Le décès spontané ou par euthanasie était considéré comme lié à la leishmaniose lorsqu'aucune autre cause évidente n'avait été rapportée. Le cas échéant, la cause en question était notée et le chien était censuré à la date de décès.

### **C. Expositions d'intérêt**

Les expositions d'intérêt suivantes telles que décrites plus haut ont été sélectionnées pour leur potentielle valeur pronostique selon la littérature :

- Stade de leishmaniose au moment de la présentation, classés en 4 stades selon la classification LeishVet
- Titre sérologique (positif, modérément positif et fortement positif)
- Azotémie
- Protéinurie
- Hypoalbuminémie
- Hyperprotéinémie
- Hyperglobulinémie
- Anémie
- Diathèse hémorragique
- Type de traitement mis en place à T0

### **D. Etude descriptive**

L'étude descriptive a été réalisée avec le logiciel Microsoft Excel®.

Pour chaque exposition, le nombre de chien pour lesquels l'information sur cette exposition était connue était indiqué.

Pour les expositions qualitatives, un pourcentage et un effectif ont été calculés.

Pour les expositions quantitatives, la médiane de survie est calculée.

## **E. Analyse de survie**

### **a. Définitions des termes**

Dans l'étude sur la survenue du décès lié à la leishmaniose, la date du début du suivi pour les analyses de survie (T0) correspondait à la date du début de traitement.

« L'évènement » correspondait à la survenue d'un décès lié à la leishmaniose, qu'il s'agisse d'un décès spontané ou d'une euthanasie.

Le « temps de survie » est le délai entre T0 et la date du décès lié à la leishmaniose (« l'évènement ») si le chien a présenté l'évènement au cours du suivi ou la date de la censure si le chien a été censuré.

Le « temps de survie médian » est le délai depuis la date du début du traitement tel qu'en estimation, 50 % des chiens sont décédés à ce moment-là. Cette estimation est effectuée par analyse des courbes de Kaplan-Meier.

### **b. Méthodes utilisées**

L'analyse de survie a été réalisée avec le logiciel SAS on demand for Academics®.

La méthode de Kaplan-Meier a permis de calculer et d'obtenir les courbes de survie pour l'ensemble des chiens, puis en fonction des expositions d'intérêt étudiées.

Le test de logrank a permis de déterminer s'il y avait une différence significative entre deux courbes de Kaplan-Meier. Une association était considérée comme statistiquement significative si  $p < 0,05$ .

Notre analyse statistique était une analyse brute, c'est-à-dire non ajustée. Ainsi, aucun biais de confusion n'a pu être pris en compte, ne permettant pas l'inférence causale.

## **3. Résultats de l'étude descriptive**

### **A. Caractéristiques épidémiologiques**

Un échantillon de 51 chiens a finalement été constitué selon les critères d'inclusion.

L'étude descriptive a porté sur 51 chiens. Pour ces 51 chiens, le diagnostic de leishmaniose a été établi en combinant le contexte épidémiologique, clinique, biologique et hématologique avec les techniques d'analyse sérologique (ELISA, IF indirecte ou test rapide), cytologique, histologique ou PCR, seules ou en association.

#### **a. Répartition selon la race**

Dans l'échantillon de 51 individus, 26 races étaient présentes en plus des chiens de type croisé (tableau 9). Les chiens croisés étaient les plus représentés (27,5 %) suivi par les boxers et les épagneuls Bretons (7,8 %), puis par les bouledogues français (5,9 %).

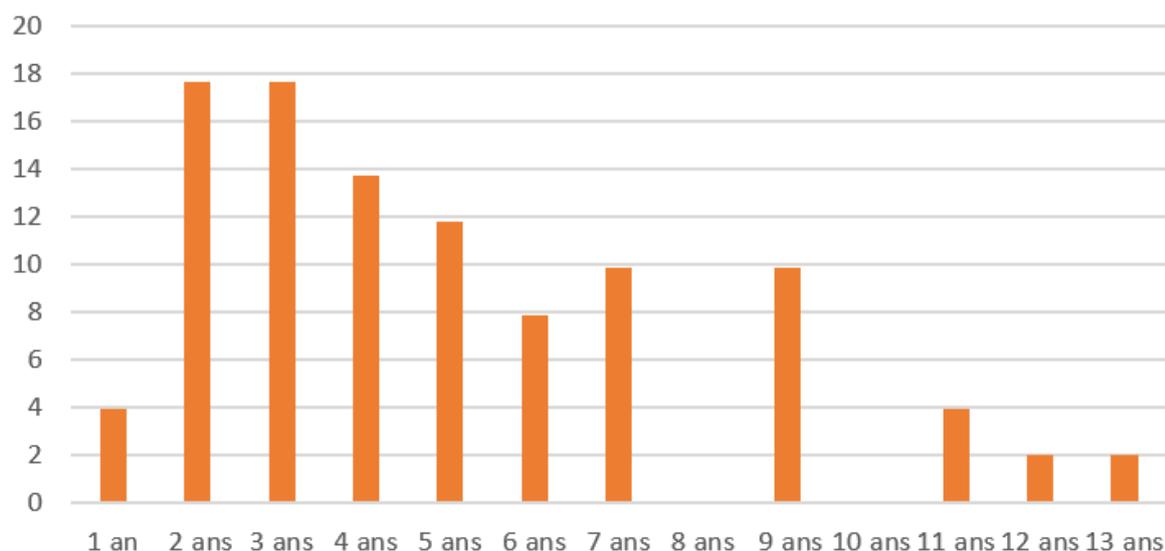
**Tableau 9 : Répartition des races des 51 chiens de l'échantillon**

<b>Races</b>	<b>Effectif</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
Croisé	14	27,5
Boxer	4	7,8
Epagneul Breton	4	7,8
Bouledogue Français	3	5,9
Américain Staffordshire Terrier	2	3,9
Podenco	2	3,9
Yorkshire Terrier	2	3,9
Beauceron	1	2,0
Berger Allemand	1	2,0
Berger des Pyrénées	1	2,0
Berger Malinois	1	2,0
Berger Polonais	1	2,0
Bouledogue Anglais	1	2,0
Bouvier Bernois	1	2,0
Braque	1	2,0
Coton de Tuléar	1	2,0
Doberman	1	2,0
Fox Terrier	1	2,0
Griffon	1	2,0
Husky Sibérien	1	2,0
Jack Russel Terrier	1	2,0
Labradoodle	1	2,0
Labrador	1	2,0
Levrier Espagnol	1	2,0
Pointer	1	2,0
Schnauzer	1	2,0
Shiba inu	1	2,0

***b. Répartition selon l'âge***

La répartition des différents âges dans l'échantillon sera décrite par sa médiane, son premier et troisième quartile ainsi que la valeur minimale et maximale (figure 4).

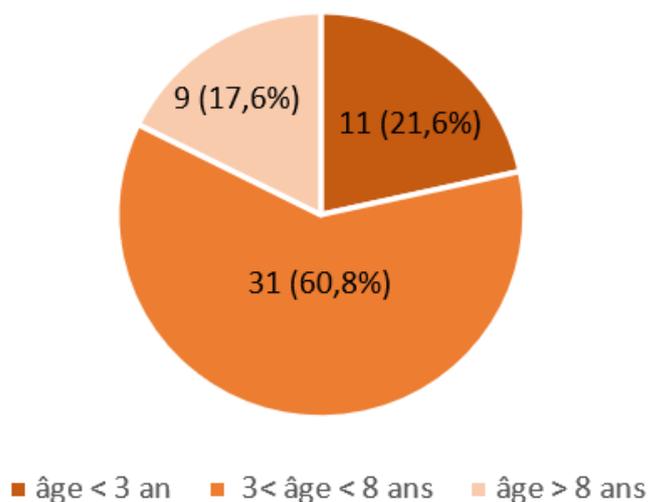
**Figure 4 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon en fonction de l'âge au moment du diagnostic de leishmaniose**



L'âge médian des chiens de l'échantillon était de 4 ans [3 ; 7 ans]. Le chien le plus jeune au moment du diagnostic avait 7 mois et le plus vieux 13 ans.

Dans notre échantillon, la tranche d'âge majoritaire était le groupe des chiens âgés de 3 à 8 ans (60.8%). Les chiens âgés de moins de 3 ans et de plus de 8 ans étaient en proportion similaire, respectivement 21,6 % et 17,6 % (figure 5).

**Figure 5 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon selon leur tranche d'âge**



**c. Répartition selon le sexe**

Dans l'échantillon, il y avait 29 mâles (56,8 %) et 22 femelles (41,2 %). Les chiens stérilisés (mâles et femelles) étaient au nombre de 17 (33,3 %) et les chiens entiers au nombre de 34 (66,6 %) (tableau 10).

**Tableau 10 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon selon le sexe et le statut stérilisé ou entier**

	Entier	Stérilisé	Total
Mâle	23	6	29
Femelle	11	11	22
Total	34	17	51

**d. Répartition selon les lieux d'habitation et de voyage**

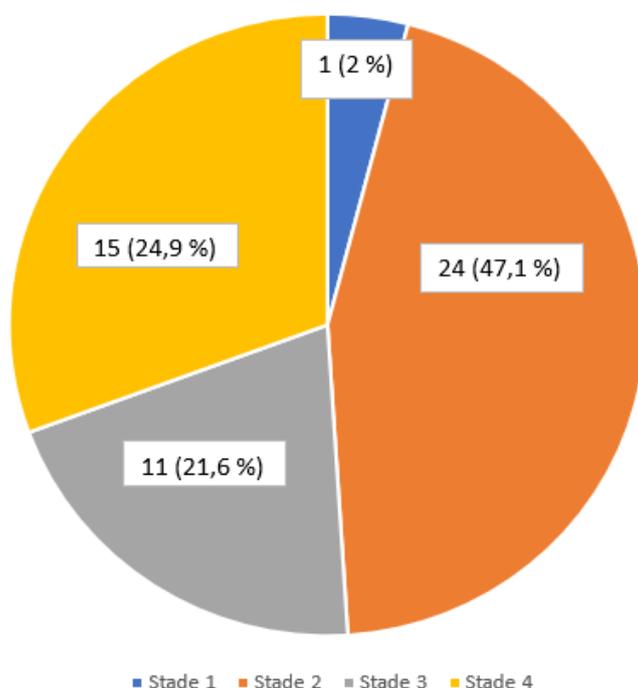
Dans l'échantillon, les précédents lieux d'habitation ou de voyage du chien étaient renseignés dans 44 des 51 dossiers retenus (88,2 %). Pour 44 de ces chiens (100 %), il était fait mention d'un voyage, d'une adoption ou d'une période de vie en zone endémique de leishmaniose (citer les zones).

**B. Caractéristiques cliniques**

**a. Répartition selon le stade Leishvet**

Le stade de leishmaniose était déterminé selon la classification Leishvet chez les 51 chiens de l'échantillon : 1 seul chien (2 %) présentait une leishmaniose de stade 1, 24 chiens (47,1 %) présentaient une leishmaniose de stade 2, 11 chiens (21,6 %) présentaient une leishmaniose de stade 3 et 15 chiens (29,4 %) présentaient une leishmaniose de stade 4 (figure 6).

**Figure 6 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon en fonction du stade LeishVet**

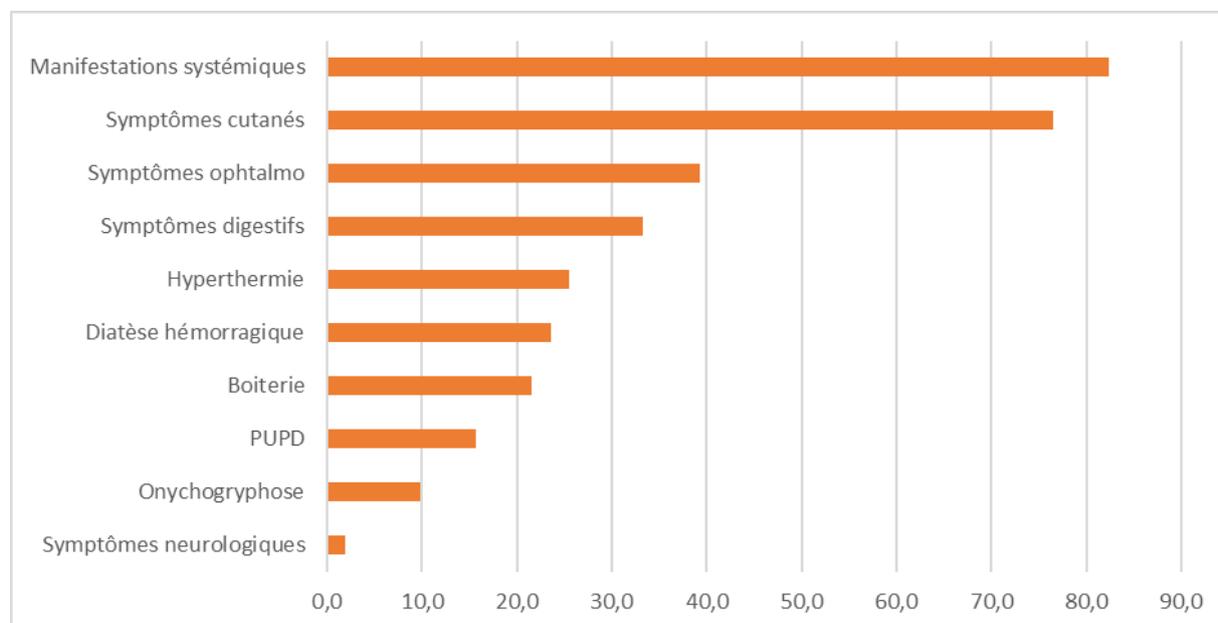


**b. Répartition selon le type de signes cliniques**

Dans l'échantillon de 51 chiens, 42 chiens (82,4 %) présentaient des manifestations systémiques, 39 chiens (76,5 %) présentaient des troubles dermatologiques, 20 chiens (39,2 %) présentaient des troubles ophtalmologiques, 17 chiens (33,3 %) présentaient des troubles digestifs, 13 chiens

(25.5 %) présentait une hyperthermie, 12 chiens (23.5 %) présentait une diathèse hémorragique dont 3 chiens présentant de l'épistaxis, 7 de l'hématochézie et 2 de l'hématémèse. Onze chiens (21.6 %) présentait une boiterie, 8 chiens (15,7 %) présentait une PUPD, 5 chiens (9.8 %) présentait une onychogryphose et des troubles neurologiques n'étaient rapportés que chez 1 chien (2 %) (figure 6).

**Figure 7 : Répartition des 51 chiens de l'échantillon en fonction du type de signes cliniques (%)**



### **c. Répartition selon les données hémato-biochimiques**

- **Répartition selon les résultats de la numération de la formule sanguine**

Dans l'échantillon de 51 chiens, une numération de la formule sanguine a été réalisée chez 37 chiens, parmi lesquels 28 chiens (75,7 %) présentait une anémie et 5 chiens (13,5 %) présentait une thrombopénie.

- **Répartition selon les résultats de l'analyse urinaire**

Les valeurs caractéristiques pour le RPCU, obtenus chez 34 chiens sont décrites dans le tableau 11 suivant. Dans ce tableau dans lequel les chiens sont répartis selon la valeur du RPCU telles que décrites dans la classification LeishVet.

Dans l'échantillon de 51 chiens, une évaluation du RPCU a été réalisée chez 34 chiens. Parmi ces 34 chiens, 8 chiens (23,5 %) présentait un RPCU < 0,5 et étaient donc considérés non protéinuriques. Vingt-six chiens (76,5 %) présentait une protéinurie (RPCU > 0,5) et étaient donc considérés protéinuriques. Parmi ces 26 chiens, 2 chiens (5,9 %) présentait un RPCU compris entre 0,5 et 1, 14 chiens (41,2 %) présentait un RPCU compris entre 1 et 5 et 10 chiens (29,4 %) présentait un RPCU > 5.

**Tableau 11 : Données relatives au RPCU des chiens de l'échantillon pour lesquels il a été déterminé (avec Q1 et Q3 les 1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> quartiles respectivement)**

	Effectif	Pourcentage (%)	Médiane	Q1-Q3	Minimum	Maximum
RPCU ≤ 0,5	8	23,5	0,3	0,1-0,4	0,1	0,5
RPCU > 0,5	26	76,5	3,9	1,7-6,8	0,6	31,4
0,5 < RPCU ≤ 1	2	5,9	0,8	0,7-0,9	0,6	1,0
1 < RPCU ≤ 5	14	41,2	2,5	1,6-3,8	1,0	5,0
RPCU > 5	10	29,4	7,1	6,7-9,0	5,1	31,4
<b>Total</b>	<b>34</b>	<b>100</b>	<b>2,5</b>	<b>0,7-5,9</b>	<b>0,1</b>	<b>3,4</b>

- **Répartition selon les résultats de l'analyse biochimique sanguine**

- Evaluation de la créatinémie

Parmi les 51 chiens de l'échantillon, la créatinémie a été mesurée chez 46 chiens (médiane = 8 mg/L [6,0-13,1] ; min = 3 mg/L ; max = 133,4 mg/L). Trente-six chiens (78,3%) n'étaient pas considérés azotémiques et 10 chiens (21,7 %) étaient considérés azotémiques. Parmi ces 10 chiens azotémiques, 6 chiens (13 %) étaient considérés modérément azotémiques, et 4 chiens (8,7 %) étaient considérés fortement azotémiques.

Les valeurs caractéristiques de la créatinémie sont regroupées dans le tableau 12 (46 chiens).

**Tableau 12 : Données relatives à la créatinémie des chiens de l'échantillon pour lesquels il a été déterminé**

Créatininémie sanguine (mg/L)	Effectif	Pourcentage (%)	Médiane	Q1-Q3	Minimum	Maximum
≤ 15	36	78,3	7,0	5,8-9,2	3,0	15,0
> 15	10	21,7	38,6	31,8-67,9	16,0	133,4
15 < Créatininémie ≤ 50	6	13,0	32,2	29,3-36,8	16,0	39,0
> 50	4	8,7	83,1	67,9-102,8	51,0	133,4
<b>Total</b>	<b>46</b>	<b>100,0</b>	<b>8,0</b>	<b>6,0-13,1</b>	<b>3,0</b>	<b>133,4</b>

- Evaluation de l'albuminémie

Parmi les 51 chiens de notre échantillon, la valeur de l'albuminémie a été déterminée chez 37 chiens (médiane = 20,2 g/L ; [16 ; 24,4] g/L ; min = 7,1 g/L ; max = 41 g/L). Trente-quatre de ces 37 chiens (91,9 %) présentaient une hypoalbuminémie.

- Evaluation de la globulinémie

Parmi les 51 chiens de l'échantillon, la valeur de la globulinémie a été déterminée chez 35 chiens (médiane = 70,4 g/L [48,7 ; 76,7] g/L ; min = 6 g/L ; max = 163 g/L). Vingt-neuf de ces chiens (82,8 %) présentaient une hyperglobulinémie.

- Evaluation du rapport albumine/globuline (A/G)

Parmi les 51 chiens de l'échantillon, un rapport A/G a pu être déterminé chez 35 chiens (médiane = 0,3 [0,2 ; 0,4] ; min = 0,1 ; max = 5). Vingt-huit de ces chiens (80 %) présentaient un rapport A/G diminué.

□ Evaluation de la protéinémie

Parmi les 51 chiens de notre échantillon, la valeur de la protéinémie a été déterminée chez 43 chiens (médiane = 88 g/L ; [79,5 ; 97] g/L ; min = 56 g/L ; max = 143 g/L). Trente-quatre de ces 43 chiens (79,1 %) présentaient une hyperprotéinémie.

□ Evaluation des paramètres hépatiques

Dans les 51 chiens de l'échantillon, l'activité des ALAT a été mesurée chez 33 chiens et celle des PAL chez 32 chiens.

Parmi les 33 chiens pour lesquels l'activité des ALAT a été mesurée (médiane = 34,5 UI/L ; [26,5 ; 54,25] UI/L ; min = 9 UI/L ; max = 93 UI/L), une augmentation de cette activité n'a été détectée chez aucun chien.

Parmi les 32 chiens pour lesquels l'activité des PAL a été mesurée (médiane = 90 UI/L [47 ; 194] UI/L ; min = 2,3 UI/L ; max = 473 UI/L), une augmentation de cette activité a été détectée chez 12 chiens (37,5 %).

• **Répartition selon les résultats des tests diagnostiques**

Parmi les 51 chiens de l'échantillon, un test sérologique par ELISA ou IF est réalisé chez 48 chiens et le résultat s'avère supérieur à la valeur de référence chez 48 de ces chiens (100 %). Trois chiens (6,2 %) de l'échantillon sont modérément positifs, 38 chiens (79,1 %) sont fortement positifs et les valeurs sont manquantes pour 6 chiens (12,5 %). Concernant ces 6 chiens, certains étaient référés par leur vétérinaire traitant à la suite de l'obtention d'un test sérologique positif, d'autres ne présentaient pas la valeur chiffrée de l'analyse sérologique dans le compte rendu mais seulement une mention manuscrite de positivité. Ces tests se composaient de 2 tests ELISA, 1 test IF, et 2 tests de nature inconnue pour lesquels le compte-rendu médical faisait simplement mention de positivité.

Concernant la méthode utilisée, une analyse sérologique ELISA est réalisée chez 29 chiens de l'échantillon et s'avère modérément positive dans seulement 2 cas (6,9 %) et fortement positive dans 25 cas (86,2 %) (maximum = 160 ; minimum = 11,5 ; médiane = 80,3). Les valeurs sont manquantes pour 2 cas (6,9 %). Pour ces 2 cas, le dossier médical mentionnait un résultat positif sans en préciser la valeur.

Une analyse sérologique par IF indirecte est réalisée chez 15 chiens et se révèle modérément positive dans 2 cas (13,3 %) et fortement positive dans 12 cas (80 %) (maximum = 1/3200 ; minimum = 1/160 ; médiane = 1/1280). Les valeurs sont manquantes pour 1 cas (6,7 %). Pour ce cas, le dossier médical stipulait un résultat positif sans en préciser la valeur.

Une analyse cytologique (19 sur nœuds lymphatiques, 2 sur peau, 2 sur foie + rate, 2 sur frottis conjonctival) est réalisée chez 25 chiens et s'avère positive chez 13 chiens (52 %).

Une analyse histologique (2 sur muqueuse gastrique et 2 sur peau) est réalisée chez 4 chiens et s'avère positive chez 3 chiens (75 %).

Une analyse PCR (2 sur nœuds lymphatiques, 1 sur moëlle osseuse et 1 sur sang) est réalisée chez 4 chiens et s'avère positive chez 3 chiens (75 %).

Les données relatives aux résultats des tests diagnostiques sont regroupées dans le tableau 13.

**Tableau 13 : Données relatives aux tests diagnostiques chez les chiens pour lesquels ils ont été réalisés**

		Effectif	Positif (%)	Modéré ment positif (%)	Fortement positif (%)	Négatif (%)	Donnée manquante
<b>Sérologie</b>	ELISA	29	100 (n=30)	6,9 (n=2)	86,2 (n=25)	0	6,9 (n=2)
	IF	15	100 (n=13)	13,3 (n=2)	80 (n=12)	0	6,7 (n=1)
	Non renseignée	3	100 (n=3)				
<b>Cytologie</b>	Nœud lymphatique	19	57,9 (n=11)			42,1 (n=8)	
	Peau	2	0			100	
	Frottis conjonctival	2	0			100	
	Foie + rate	2	100 (n=2)			0	
	Total	25	54,2 (n=13)			45,8 (n=11)	
<b>Histologie</b>	Muqueuse gastrique	2	100			0	
	Peau	2	50 (n=1)			50 (n=1)	
	Total	4	75 (n=3)			25 (n=1)	
<b>PCR</b>	Sang	1	0			100	
	Moëlle osseuse	1	100			0	
	Nœud lymphatique	2	100			0	
	Total	4	75(n=3)			25 (n=1)	

Dans 18 cas, l'association d'un test sérologique (ELISA ou IF) et d'une analyse cytologique a été utilisée pour le diagnostic. Parmi ces 18 cas, l'analyse sérologique était fortement positive dans 16 cas (88,9 %) et l'analyse cytologique était positive dans 5 cas (35,7 %). Les valeurs de sérologie étaient manquantes dans 2 cas (11,1 %)

Dans 2 cas, l'association d'un test sérologique (ELISA ou IF), d'une analyse cytologique et d'une analyse histologique a été utilisée. Parmi ces 2 cas, l'analyse sérologique était toujours fortement positive, l'analyse histologique était positive dans les 2 cas (1 analyse sur peau et 1 analyse sur muqueuse gastrique), et l'analyse cytologique s'est avérée négative dans 1 cas (50 %) (analyse sur peau) et positive dans l'autre cas (analyse sur nœuds lymphatiques).

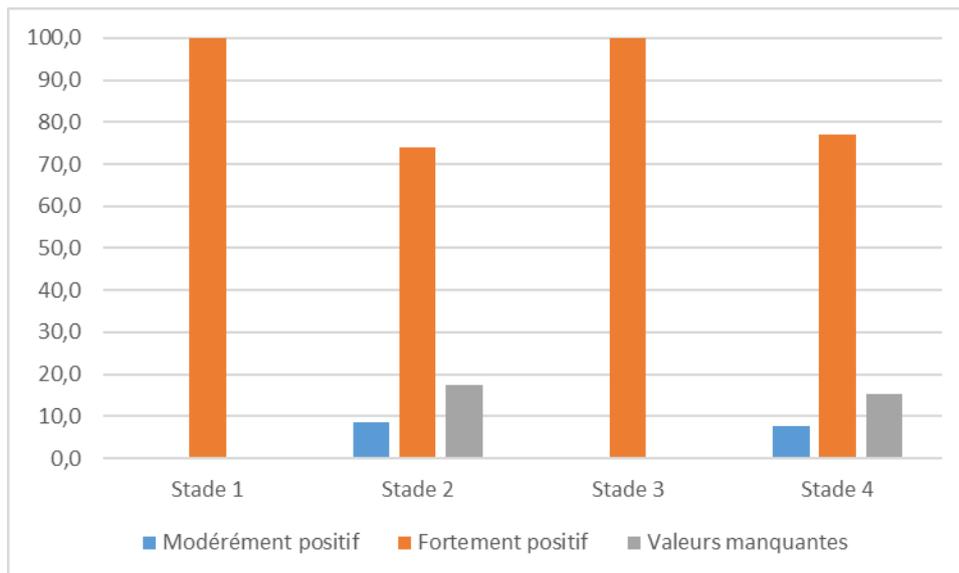
Dans 1 cas, l'association d'une analyse cytologique sur nœud lymphatique et histologique sur peau a été utilisée. Seule l'analyse cytologique s'est avérée positive.

Dans 1 cas, l'association d'un test sérologique par IF indirecte, d'une analyse cytologique sur prélèvement de foie et de rate et d'une analyse PCR sur nœud lymphatique a été utilisée. Le test sérologique s'est avéré fortement positif et les analyses cytologiques et PCR se sont avérées positives également.

Dans 1 cas, l'association d'une analyse cytologique sur nœud lymphatique et d'une analyse PCR sur nœud lymphatique a été utilisée. Les deux analyses se sont avérées positives.

On note ici que chez les 13 chiens présentant une leishmaniose de stade 4 pour lesquels une analyse sérologique a été réalisée, Tous les chiens présentaient un résultat positif (100 %). Dix chiens (76,9 %) présentaient un résultat fortement positif, 1 seul chien (7,7 %) présentait un résultat modérément positif et aucun chien ne présentait de résultat négatif. Les valeurs étaient manquantes pour 2 chiens (15,4 %). Chez les 10 chiens présentant une leishmaniose de stade 3 pour lesquels une analyse sérologique a été réalisée, tous les chiens présentaient un résultat fortement positif (100 %). Chez les 23 chiens présentant une leishmaniose de stade 2 pour lesquels une analyse sérologique a été effectuée, tous les résultats étaient positifs (100 %). 17 chiens (73,9 %) présentaient un résultat fortement positif, 2 chiens (8,7 %) présentaient un résultat modérément positif et les valeurs étaient manquantes pour 4 chiens (17,4 %). Le seul chien qui présentaient une leishmaniose de stade 1 pour qui une analyse sérologique a été réalisée présentait étonnamment un résultat fortement positif (figure 8).

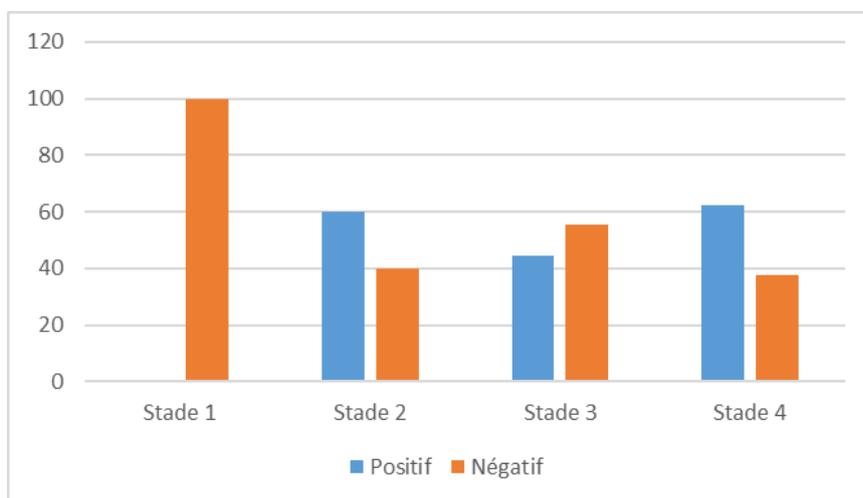
**Figure 8 : Répartition en pourcentage (%) des résultats de l'analyse sérologique chez les chiens de l'échantillon pour lesquels elle a été réalisée en fonction du stade de la maladie**



Compte-tenu de leur faible nombre dans cette étude, on a regroupé les techniques d'identification directe (examen cytologique, examen histologique et PCR) afin de décrire leurs résultats. Trente-trois examens d'identification directs ont été effectués sur 26 chiens.

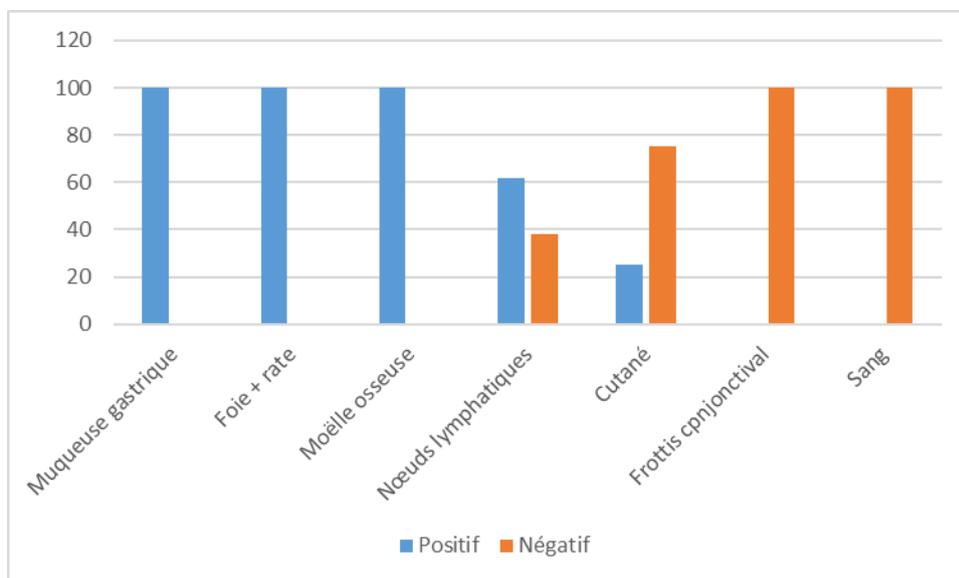
Ces examens ont été utilisés 8 fois chez 6 chiens présentant une leishmaniose de stade 4. Le résultat était positif dans 5 cas (62,5 %) et négatif dans 3 cas (37,5 %). Les examens d'identification directe ont été utilisés 9 fois chez 9 chiens présentant une leishmaniose de stade 3. Le résultat était positif dans 4 cas (44,4 %) et négatif dans 5 cas (55,6 %). Les examens d'identification directe ont été utilisés 15 fois chez 10 chiens présentant une leishmaniose de stade 2. Le résultat était positif dans 9 cas (60 %) et négatif dans 5 cas (40 %). Les examens d'identification directe ont été utilisés 2 fois chez le chien présentant une leishmaniose de stade 1 et se sont tous les deux (100 %) avérés négatifs. Ces résultats sont présentés dans la figure 9.

**Figure 9 : Répartition en pourcentage (%) des résultats des examens d'identification directe chez les chiens de l'échantillon chez qui ils ont été réalisés en fonction du stade de la maladie**



Parmi les 33 examens d'identification directe effectués, 21 ont été réalisés sur des prélèvements de nœuds lymphatiques, dont 13 (61,9 %) se sont avérés positifs et 8 (38,1 %) se sont avérés négatifs. Quatre examens ont été réalisés sur des prélèvements cutanés dont 1 (25%) s'est avéré positif et 3 (75 %) se sont avérés négatifs. Deux prélèvements ont été analysés sur des échantillons de muqueuse gastrique et de foie + rate pour lesquels les 4 analyses (100 %) se sont avérées positives. Deux prélèvements de frottis conjonctivaux ont été analysés et se sont avérés négatifs (100%). Un prélèvement de sang a été analysé et s'est avéré négatif (100 %). Un prélèvement de moëlle osseuse a été analysé et s'est avéré positif (100 %). Ces résultats sont présentés dans la figure 10.

**Figure 10 : Répartition en pourcentage (%) des résultats des examens d'identification directe chez les chiens de l'échantillon pour lesquels ils ont été réalisés en fonction du type de prélèvement**



## C. Caractéristiques thérapeutiques

### a. Données relatives au traitement

Concernant les caractéristiques thérapeutiques, parmi les 51 chiens de l'échantillon, 15 chiens sont exclus de l'étude par manque d'information concernant leur suivi après la première consultation au ChuvA.

Parmi les 36 chiens pour lesquels un suivi après la première consultation était archivé, 27 chiens (75 %) ont été traités avec une association d'allopurinol et d'antimoniote de méglumine. Parmi ces 27 chiens, 16 chiens présentaient une leishmaniose de stade 2, 5 chiens présentaient une leishmaniose de stade 3 et 6 chiens présentaient une leishmaniose de stade 4. A l'issue de la première consultation de suivi (T1), 10 chiens ont poursuivi le même traitement (2 chiens présentaient alors une leishmaniose de stade 1, 7 chiens présentaient alors une leishmaniose de stade 2, 1 chien présentait alors une leishmaniose de stade 3), 15 chiens ont été traités avec de l'allopurinol seul (1 chien présentait alors une leishmaniose de stade 1, 11 chiens présentaient alors une leishmaniose de stade 2, 2 chiens présentaient alors une leishmaniose de stade 3 et 1

chien présentait alors une leishmaniose de stade 4) et un chien a été traité avec une association de miltéfosine et d'allopurinol (il présentait alors une leishmaniose de stade 3). Les données étaient manquantes pour 1 chien.

A T0, parmi les 36 chiens pour lesquels un suivi après la première consultation était archivé, 6 chiens (16,6 %) ont été traités avec de l'allopurinol seul. Parmi ces 6 chiens, à T0, 5 chiens présentaient une leishmaniose de stade 2 et 1 chien présentait une leishmaniose de stade 4. A l'issue de la première consultation de suivi (T1), 1 de ces chiens a été traité avec une association d'allopurinol et d'antimoniote de méglumine (il présentait alors une leishmaniose de stade 2), 3 de ces chiens ont continué à être traités avec de l'allopurinol seul (les 3 chiens présentaient alors une leishmaniose de stade 2) et 2 de ces chiens n'ont plus reçu de traitement (1 de ces chiens présentait alors une leishmaniose de stade 1 et l'autre présentait alors une leishmaniose de stade 2).

A T0, parmi les 36 chiens pour lesquels un suivi après la première consultation était archivé, un chien (2,8 %) n'a pas reçu de traitement médical. Il présentait une leishmaniose de stade 2. A T1, ce chien présentait toujours une leishmaniose de stade 2 et a été traité avec de l'allopurinol seul.

A T0, parmi les 36 chiens pour lesquels un suivi après la première consultation était archivé, un (2,8 %) chien a été traité avec une association de miltéfosine et d'allopurinol. Il présentait une leishmaniose de stade 2. A T1, ce chien a continué à être traité avec une association de miltéfosine et d'allopurinol et il présentait alors une leishmaniose de stade 2.

A T0, parmi les 36 chiens pour lesquels un suivi après la première consultation était archivé, un chien (2,8 %) a été traité avec de l'antimoniote de méglumine seule. Il présentait alors une leishmaniose de stade 3. A T1, ce chien a été traité avec une association d'allopurinol et d'antimoniote de méglumine. Il présentait alors une leishmaniose de stade 3.

Les données relatives à cette partie sont présentées en annexe 1.

#### ***b. Données relatives à l'évolution de la maladie***

Les données relatives à l'évolution de la maladie sont présentées dans le tableau 14 suivant.

**Tableau 14 : Données relatives à l'évolution de la maladie parmi chez les chiens de l'échantillon pour qui elle était évaluée**

	INTERVALLE		
	T0-T1	T0-T2	T1-T2
<b>REMISSION COMPLETE % (n)</b>	13,8 (n=5)	44 (n=11)	36 (n=9)
<b>REMISSION PARTIELLE % (n)</b>	16,7 (n=6)	8 (n=2)	4 (n=1)
<b>STABILISATION % (n)</b>	66,7 (n=24)	48 (n=12)	48 (n=12)
<b>AGGRAVATION % (n)</b>	2,8 (n=1)	0 (n=0)	0 (n=0)
<b>RECHUTE % (n)</b>	0 (n=0)	0 (n=0)	12 (n=3)
<b>DONNEES MANQUANTES % (n)</b>	0 (n=0)	30,5 (n=11)	30,5 (n=11)

- **Entre T0 et T1**

Parmi les 36 chiens de l'échantillon, entre T0 et T1, 5 chiens (13,8 %) ont présenté une rémission complète, 6 chiens (16,7 %) ont présenté une rémission partielle, 24 chiens (66,7 %) ont présenté une maladie stable et 1 chien (2,8 %) a présenté une aggravation de la maladie.

- **Entre T0 et T2**

Parmi les 36 chiens de l'échantillon, les données nécessaires au suivi à T2 étaient manquantes pour 11 chiens.

Entre T0 et T2, 11 chiens (44 %) ont présenté une rémission complète, ceci incluant deux des chiens déjà en rémission complète à T1, les données étant manquantes pour les 2 autres. Douze chiens (48 %) ont présenté une stabilisation de la maladie et 2 chiens (8 %) ont présenté une rémission partielle. Aucun chien n'a présenté d'aggravation de la maladie.

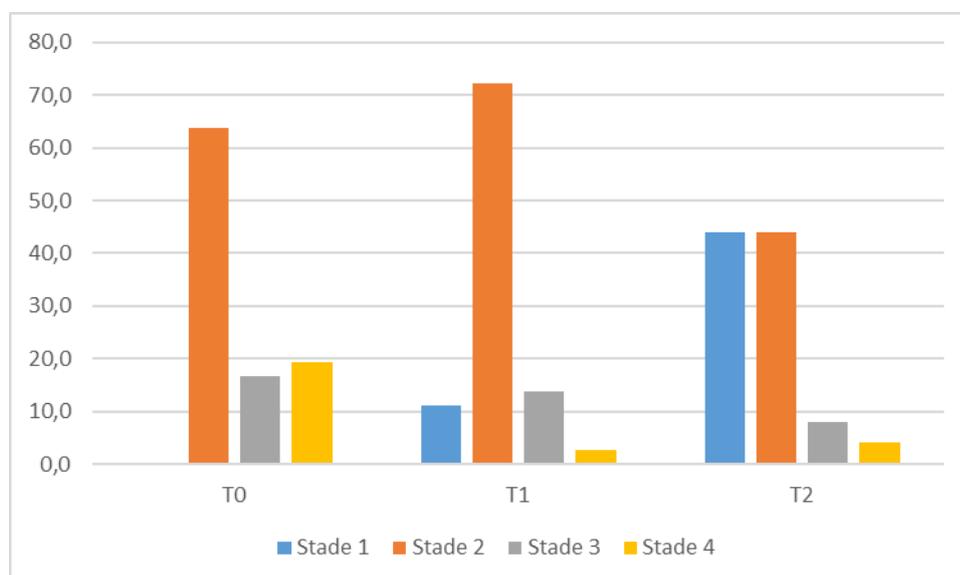
- **Entre T1 et T2**

Parmi les 36 chiens de l'échantillon, les données nécessaires au suivi à T2 étaient manquantes pour 11 chiens.

Entre T1 et T2 9 chiens (36 %) ont présenté une rémission complète, 12 chiens (48 %) ont présenté une stabilisation de la maladie, ceci incluant deux des chiens déjà en rémission complète à T1, les données étant manquantes pour les deux autres. Un chien (4 %) a présenté une rémission partielle, 3 chiens (12%) ont présenté une rechute de la maladie.

La figure 11 permet une visualisation graphique de la répartition des différents stades de la maladie à T0, T1 et T2 chez les 36 chiens de l'échantillon.

**Figure 11 : Répartition en pourcentage (%) des différents stades de leishmaniose à T0, T1 et T2 chez les 32 chiens de l'échantillon**



#### 4. Etude sur la survenue du décès lié à la leishmaniose

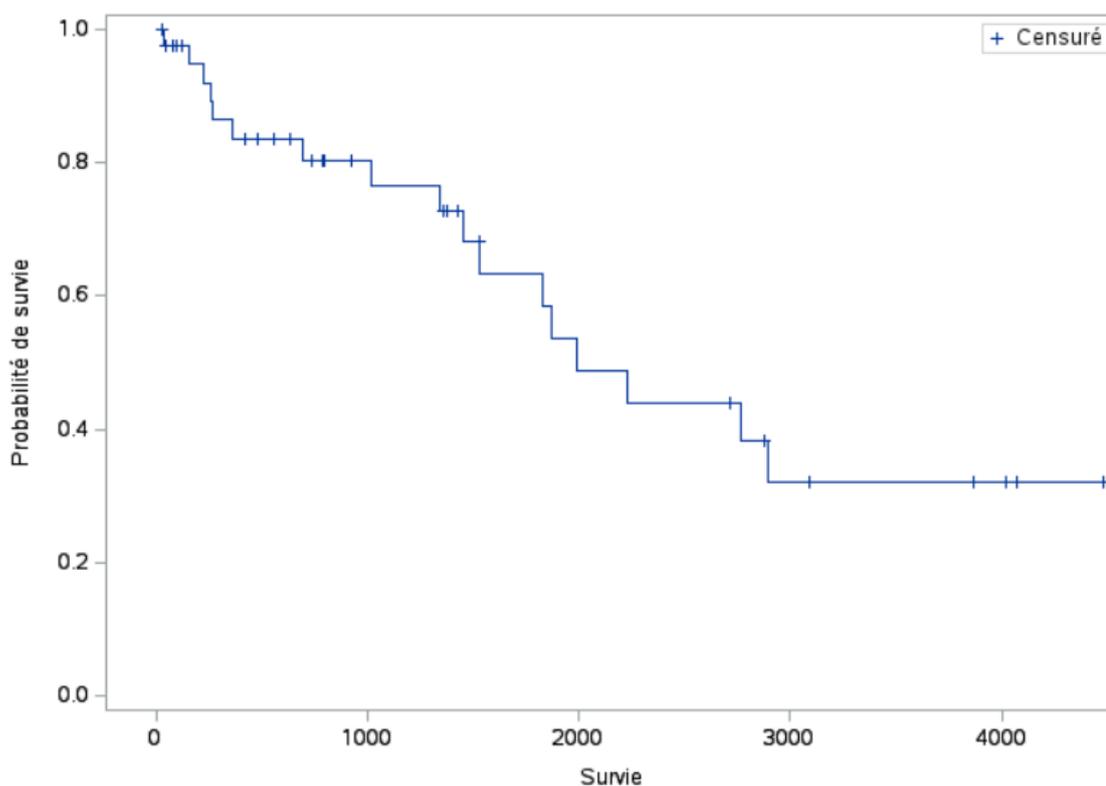
L'objectif de cette étude était de (1) déterminer le temps de survie estimé par la méthode de Kaplan-Meier des chiens de notre échantillon et (2) de déterminer si des éléments cliniques ou hémato-biochimiques déterminés au moment du diagnostic étaient associés au temps de survie des chiens atteints de leishmaniose.

##### A. Analyse de survie générale

L'analyse de survie pour notre étude (survenue d'un décès lié à la leishmaniose) a été réalisée sur l'échantillon de 42 chiens tel que décrit dans la partie Matériel et méthodes. A la fin de l'étude, le 28 juillet 2023, 17 chiens sont décédés à cause de leur leishmaniose *a priori*, 14 chiens sont encore vivants. Les 11 autres chiens sont perdus de vue et leur date de censure correspondait à la date de la dernière consultation connue.

D'après la courbe de Kaplan-Meier (figure 12), dans l'échantillon, le temps de survie médian (TSM) était estimé à 1992 jours, c'est-à-dire qu'en estimation, 50 % des chiens de l'échantillon étaient encore en vie 1992 jours après l'initiation du traitement contre la leishmaniose.

**Figure 12 : Courbe de survie générale (en jours) des 42 chiens inclus dans l'étude de la survenue d'un décès lié à la leishmaniose**



## **B. Analyse de survie univariée**

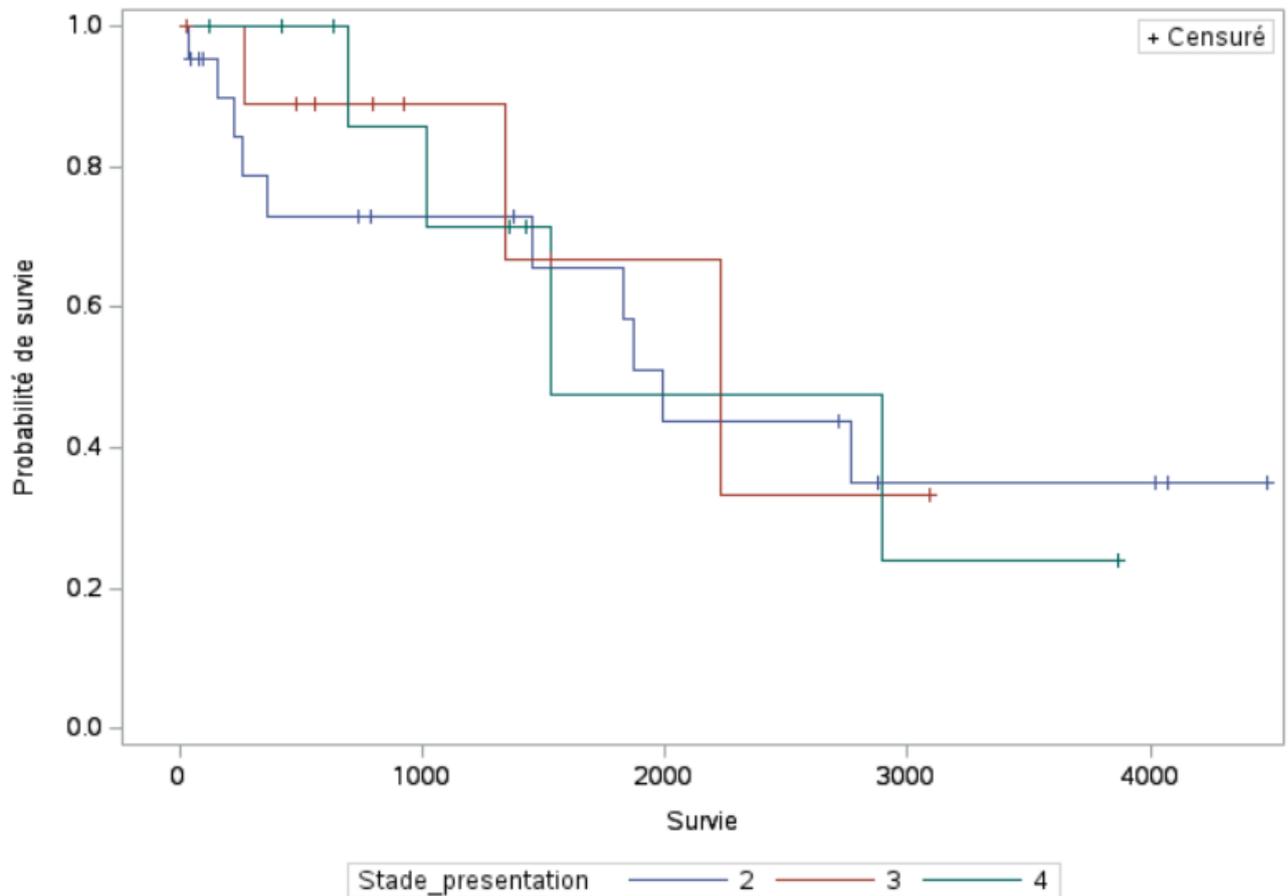
### **a. Selon les caractéristiques cliniques de la leishmaniose**

- *Selon le stade à T0*

Les 42 chiens de l'échantillon sont répartis en 4 groupes correspondant au stade de leishmaniose (selon la classification LeishVet) au moment de la première présentation.

D'après la courbe de Kaplan-Meier (figure 13), dans l'échantillon, il n'y avait pas d'association significative entre le stade de leishmaniose au moment du diagnostic et la survenue d'un décès lié à la leishmaniose (TSM chez les chiens présentant une leishmaniose de stade 2 = 1992 jours (n = 22 chiens) ; TSM chez les chiens présentant une leishmaniose de stade 3 = 2228 jours (n = 10 chiens) ; TSM chez les chiens présentant une leishmaniose de stade 4 = 1532 jours (n = 10 chiens) ; p = 0,94). Aucun chien de l'échantillon ne présentait une leishmaniose de stade 1.

**Figure 13 : Courbe de survie (en jours) en fonction du stade de leishmaniose au moment de la présentation des 42 chiens inclus dans l'étude de la survenue d'un décès lié à la leishmaniose**

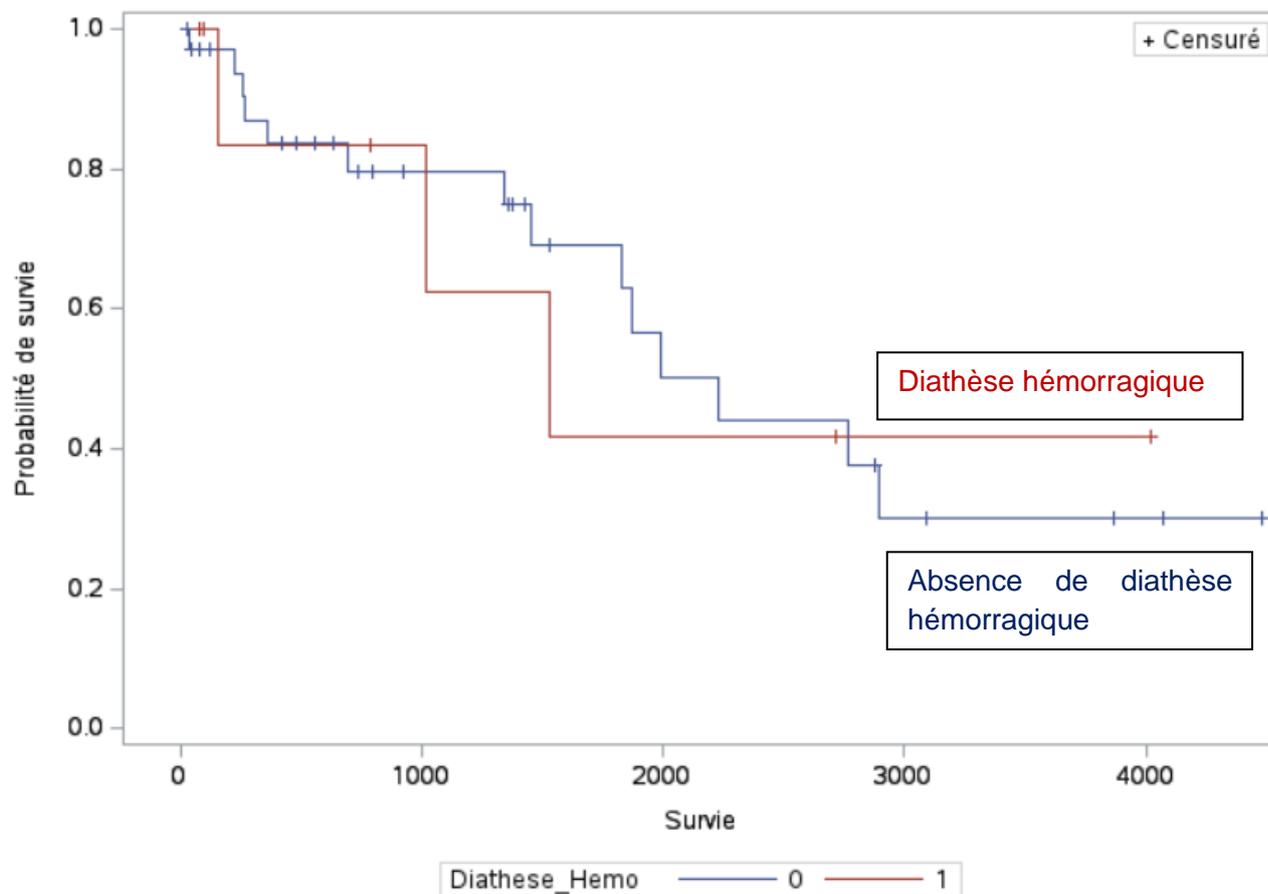


- Selon la présence de diathèse hémorragique

Les 42 chiens de l'échantillon ont été répartis en 2 groupes selon la présence (1) ou non (0) de diathèse hémorragique lors de la première présentation (T0).

D'après la courbe de Kaplan-Meier (figure 15), dans l'échantillon, il n'y avait pas d'association significative entre la présence de diathèse hémorragique lors de la première présentation et la survenue d'un décès lié à la leishmaniose (TSM chez les chiens présentant une diathèse hémorragique = 1532 jours (n = 8 chiens) ; TSM chez les chiens ne présentant pas de diathèse hémorragique lors de la première présentation = 2228 jours (n = 34 chiens) ; p = 0,95).

**Figure 14 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence de diathèse hémorragique au moment de la présentation des 42 chiens inclus dans l'étude de la survenue d'un décès lié à la leishmaniose (0 = absence de diathèse hémorragique ; 1 = présence de diathèse hémorragique)**



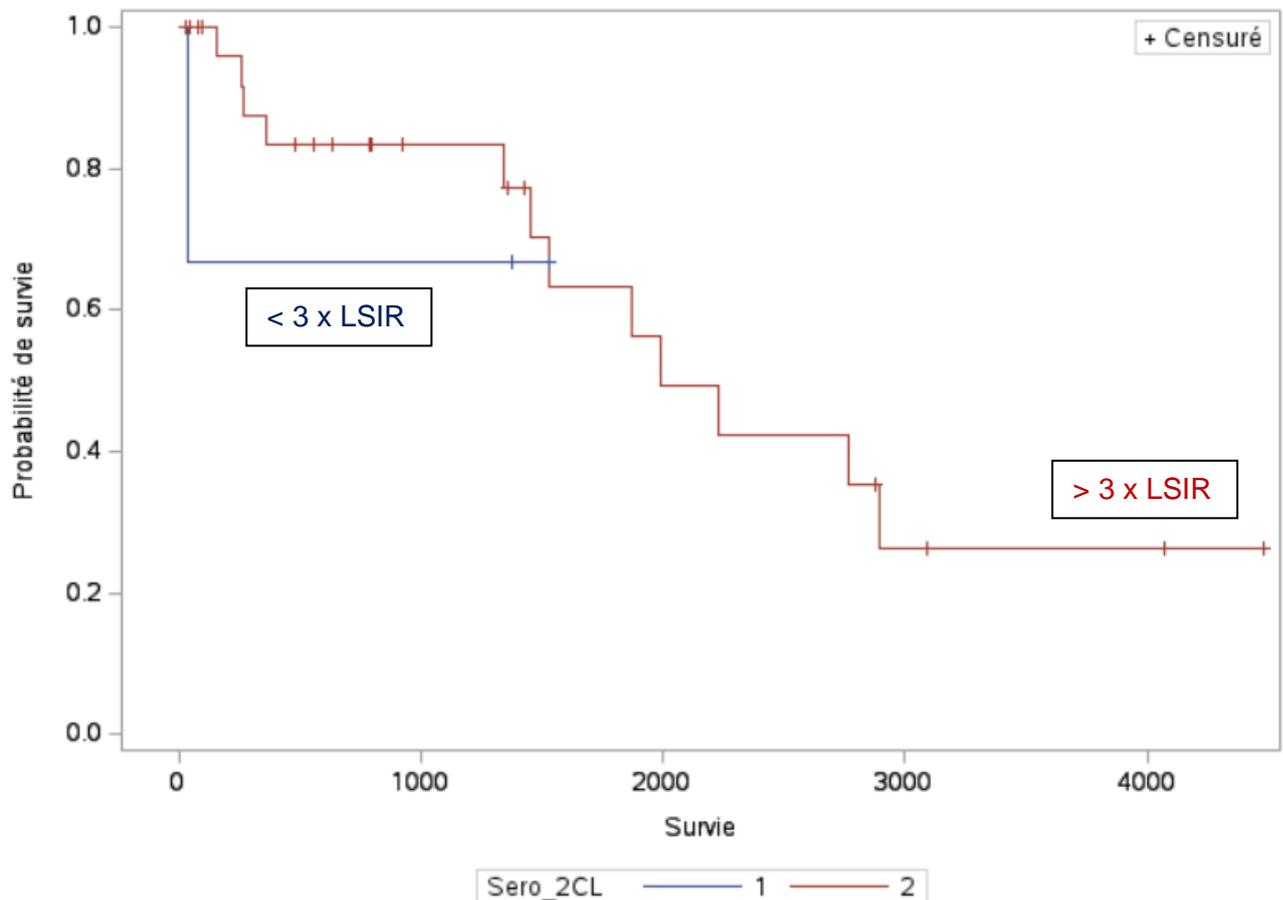
**b. Selon les caractéristiques hémato-biochimiques**

- Selon le titre sérologique

Les 42 chiens de l'échantillon ont été répartis en 2 groupes selon le titre sérologique obtenu lors de la première présentation (1 = titre sérologique inférieur à 3 fois la limite supérieure de l'intervalle de référence (LSIR) ; 2 = titre sérologique supérieur à 3 fois la LSIR). L'effectif de l'échantillon ne permettait pas de répartir les sujets en plus de groupes. Les données étaient disponibles pour 33 chiens de l'échantillon.

D'après la courbe de Kaplan-Meier (figure 15), dans l'échantillon, il n'y avait pas d'association significative entre le titre sérologique obtenu au moment du diagnostic et la survenue d'un décès lié à la leishmaniose (TSM pour les chiens dont le titre sérologique était supérieur à 3 fois la LSIR = 1992 (n=29) ; p = 0.63). Le TSM des chiens présentant un titre sérologique inférieur à 3 fois la LSIR n'a pas été atteint dans les limites temporelles de cette étude. On voit cependant que 25 % de ces chiens étaient décédés 37 jours après le diagnostic.

**Figure 15 : Courbe de survie (en jours) en fonction du titre sérologique au moment de la présentation des 33 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (1 = titre sérologique inférieur à 3 fois la LSIR ; 2 = titre sérologique supérieur à 3 fois la LSIR)**

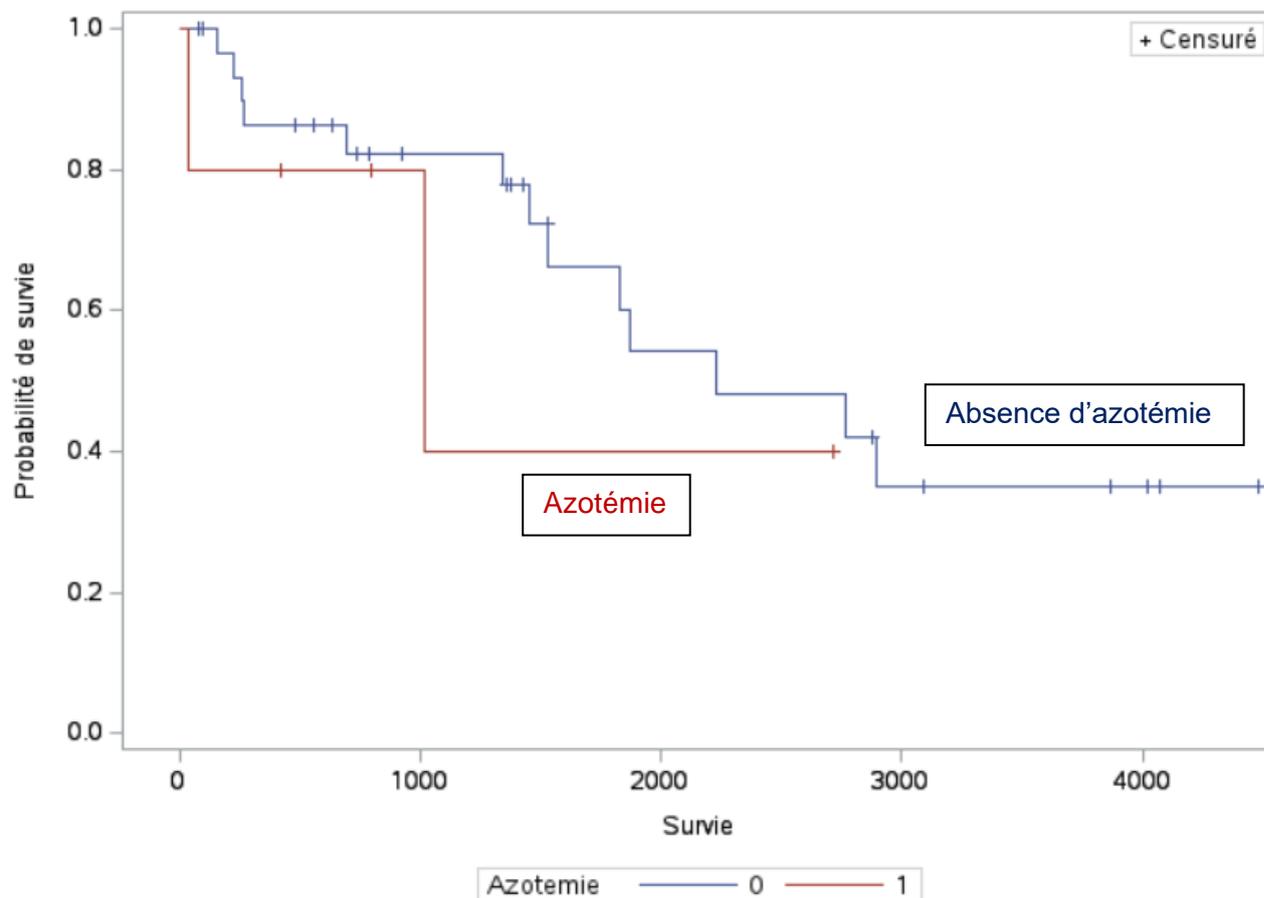


- *Selon la présence d'azotémie*

Les 42 chiens de l'échantillon ont été répartis en 2 groupes selon la présence (1) ou non (0) d'une azotémie au moment du diagnostic. Les données étaient disponibles pour 37 chiens de l'échantillon.

D'après la courbe de Kaplan-Meier (figure 16), dans l'échantillon, il n'y avait pas d'association significative entre la présence d'une azotémie et la survenue d'un décès lié à la leishmaniose (TSM des chiens ne présentant pas d'azotémie au moment du diagnostic = 2228 jours (n = 32) ; TSM des chiens présentant une azotémie = 1013 jours (n = 5) ; p = 0,54).

**Figure 16 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence d'une azotémie au moment du diagnostic des 37 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (0 = absence d'azotémie ; 1 = présence d'une azotémie)**

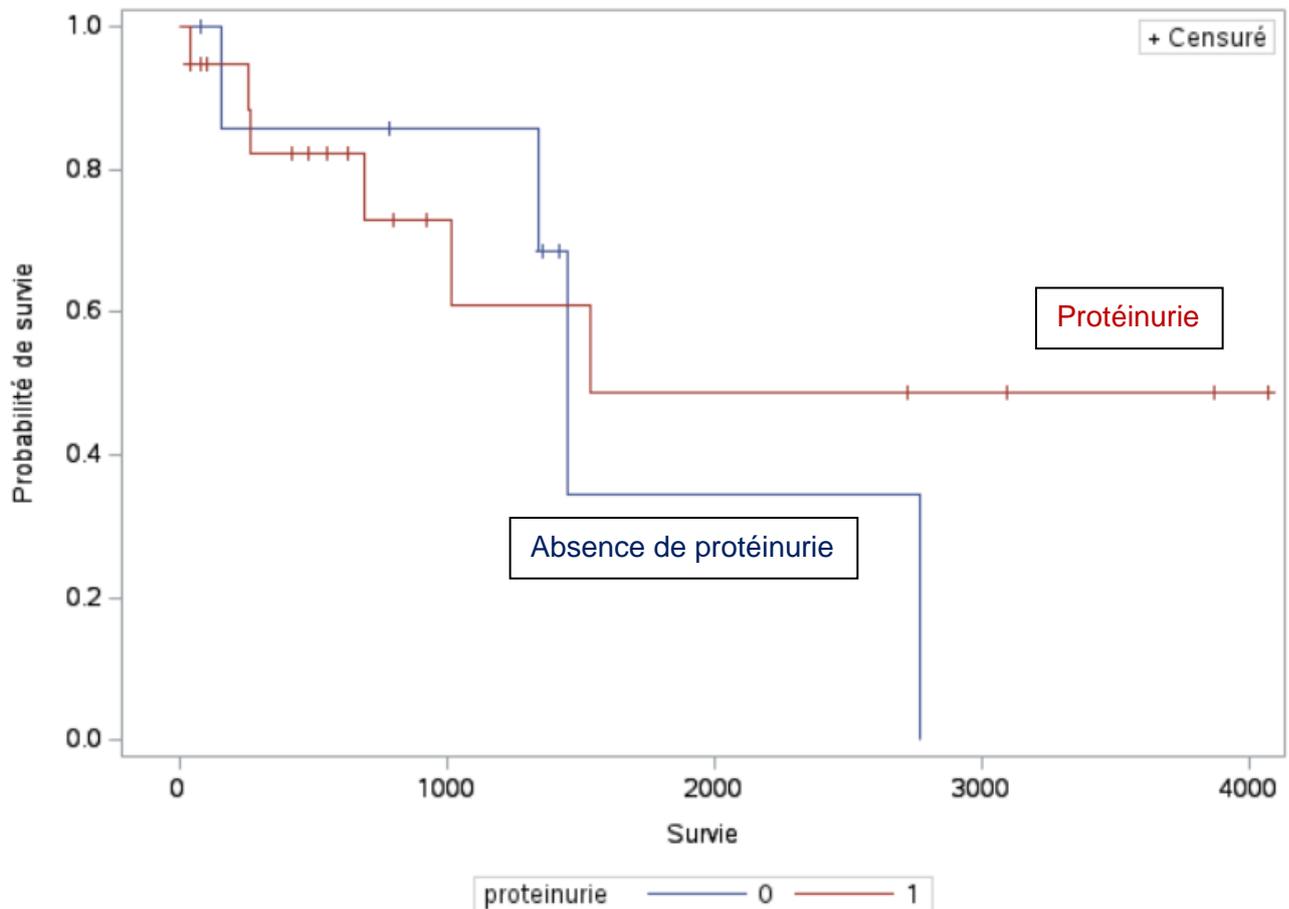


- *Selon la présence d'une protéinurie*

Les 42 chiens de l'échantillon ont été répartis en 2 groupes selon la présence (1) ou non (0) de protéinurie au moment du diagnostic (T0). Les données étaient disponibles chez 27 chiens.

D'après la courbe de Kaplan-Meier (figure 17), dans l'échantillon, il n'y avait pas d'association significative entre la présence de protéinurie au moment du diagnostic et la survenue d'un décès lié à la leishmaniose (TSM chez les chiens ne présentant pas de protéinurie = 1450 jours (n = 8 chiens) ; TSM chez les chiens présentant une protéinurie = 1532 jours (n = 19) ; p = 0,61).

**Figure 17 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence de protéinurie au moment du diagnostic des 27 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (0 = absence de protéinurie ; 1 = présence d'une protéinurie)**

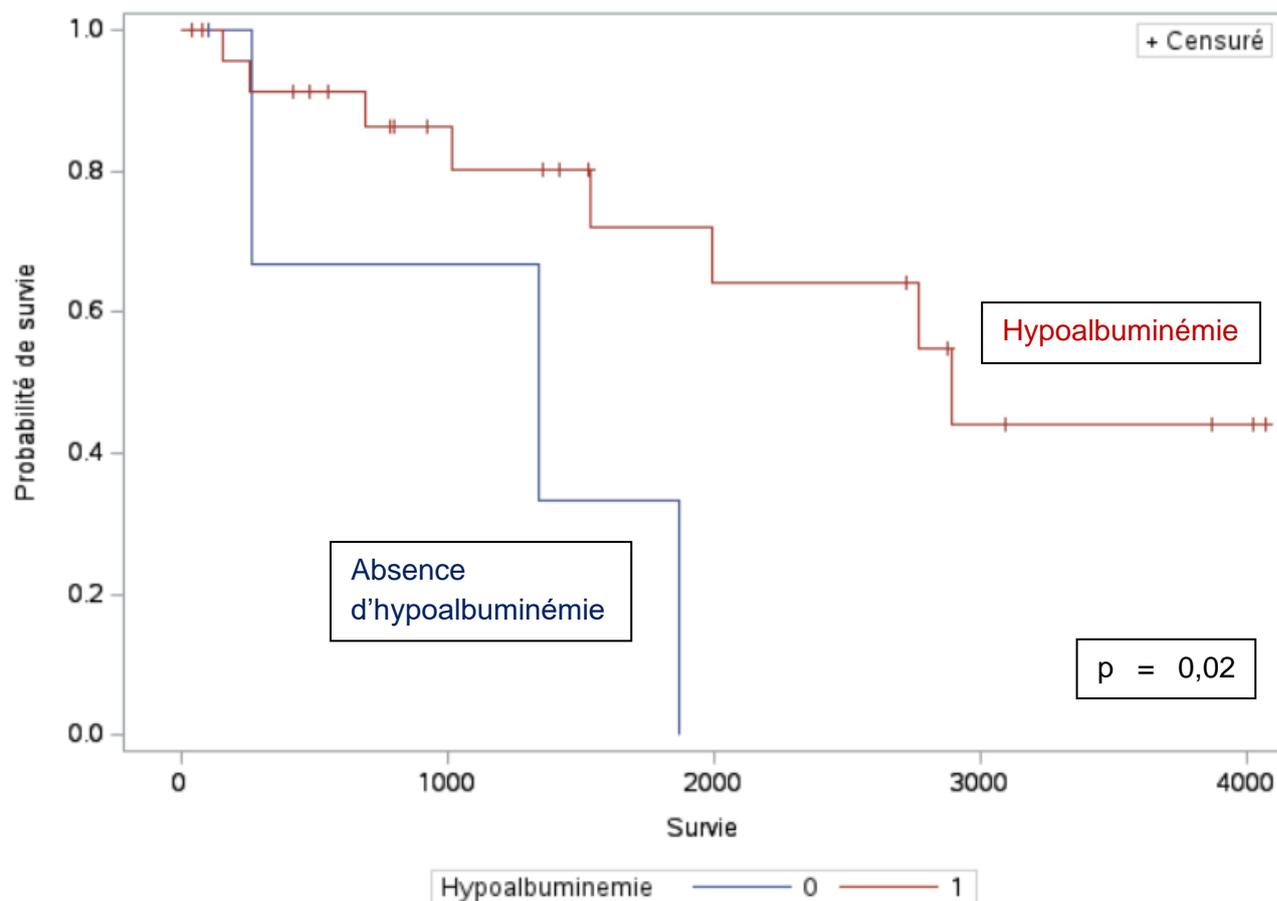


- *Selon la présence d'une hypoalbuminémie*

Les 42 chiens de l'échantillon ont été répartis en 2 groupes selon la présence (1) ou non (0) d'une hypoalbuminémie au moment du diagnostic. Les données étaient disponibles pour 30 chiens.

D'après la courbe de Kaplan-Meier (figure 18), dans l'échantillon, on observait que le décès lié à la leishmaniose survenait plus rapidement quand une hypoalbuminémie était absente au moment du diagnostic. La présence d'une hypoalbuminémie au moment du diagnostic était significativement associée à la survenue du décès lié à la leishmaniose (TSM chez les chiens présentant une hypoalbuminémie = 2891 jours (n=26) ; TSM chez les chiens ne présentant pas une hypoalbuminémie = 1344 jours (n=4) ; p = 0,02).

**Figure 18 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence d'une hypoalbuminémie au moment du diagnostic des 30 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (0 = absence d'hypoalbuminémie ; 1 = présence d'une hypoalbuminémie)**

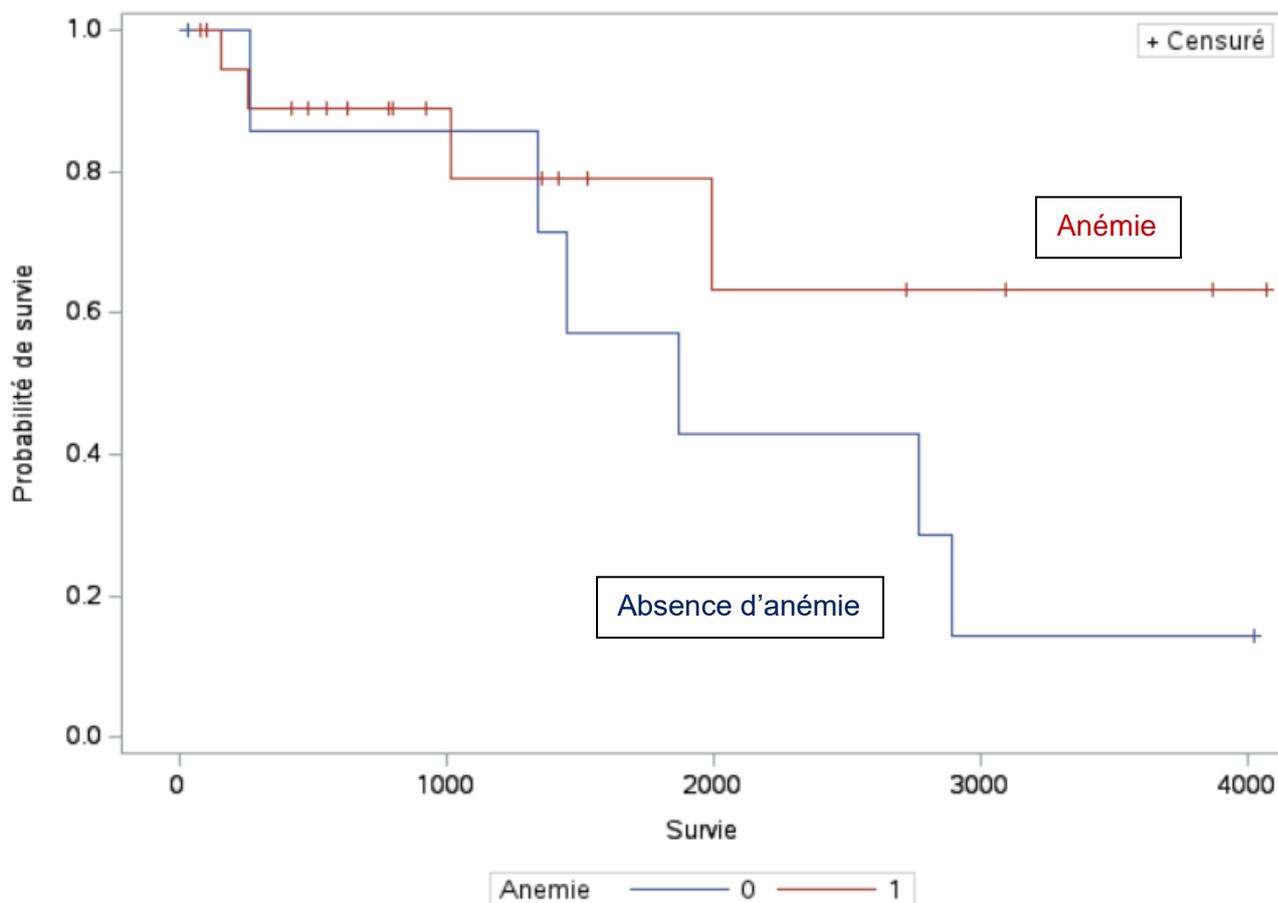


- *Selon la présence d'une anémie*

Les 42 chiens de l'échantillon ont été répartis en 2 groupes selon la présence (1) ou non (0) d'une anémie lors de la première présentation (T0). Les données étaient disponibles chez 29 chiens.

D'après la courbe de Kaplan-Meier (figure 19), dans l'échantillon, il n'y avait pas d'association significative entre la présence d'une anémie lors de la première présentation et la survenue d'un décès lié à la leishmaniose (TSM chez les chiens ne présentant pas une anémie = 1870 jours (n = 8 chiens) ; p = 0,16). Le TSM des chiens présentant une anémie (n = 21) n'a pas été atteint dans les limites temporelles de cette étude. On voit cependant que 25 % des chiens présentant une anémie étaient décédés 1992 jours après leur présentation initiale.

**Figure 19 : Courbe de survie (en jours) en fonction de la présence d'une anémie au moment de la présentation des 29 chiens de l'échantillon pour lesquels les données étaient disponibles (0 = absence d'anémie ; 1 = présence d'une anémie)**



### **c. Selon le type de protocole thérapeutique**

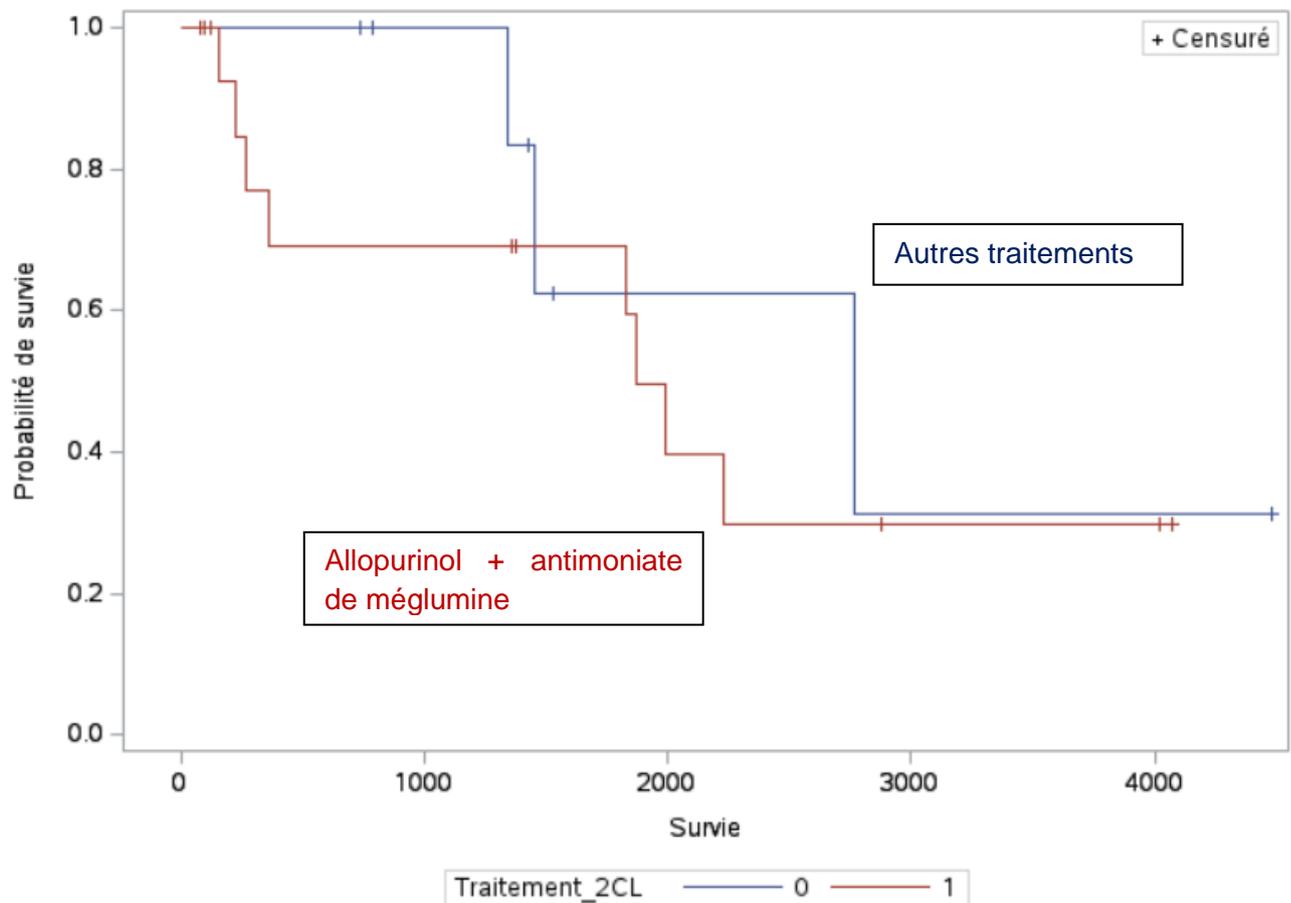
Le choix du protocole de traitement dépend en théorie du stade de la maladie. Ainsi, il n'y aurait pas beaucoup de sens à analyser la survie associée aux différents protocoles de traitement sur les 42 chiens de l'échantillon. Cependant, pour un même stade clinique, la partie descriptive de notre étude a montré que différents protocoles de traitement sont utilisés en pratique. L'objectif de cette partie était d'analyser la survie en fonction du protocole de traitement utilisé au sein d'un groupe de chiens présentant le même stade clinique. En raison du faible effectif de notre échantillon, il n'est possible de s'intéresser qu'aux chiens présentant une leishmaniose de stade 2.

Les 25 chiens de notre échantillon présentant une leishmaniose de stade 2 ont été répartis en deux groupes : d'une part les chiens ayant été traités avec un protocole à base d'allopurinol et d'antimoniote de méglumine à T0 (groupe 1) et d'autre part les chiens ayant été traités avec un autre protocole à T0 (allopurinol seul, miltéfosine seule, antimoniote de méglumine seul, allopurinol + miltéfosine ou absence de traitement) (groupe 0). Les données étaient disponibles pour les 25 chiens. Le faible effectif de l'échantillon ne permettait de répartir les chiens en plus de groupes selon le protocole de traitement.

D'après la courbe de Kaplan Meier (Figure 20), dans l'échantillon, il n'y avait pas d'association significative entre le type de traitement utilisé à T0 chez les chiens présentant une leishmaniose de stade 2 et la survenue d'un décès lié à la leishmaniose (TSM chez les chiens

traités avec un protocole à base d'allopurinol + antimoniote de méglumine = 1870 jours (n = 17 chiens) ; TSM chez les chiens traités avec un autre protocole = 2767 jours (n = 8) ; p = 0,33).

**Figure 20 : Courbe de survie (en jours) en fonction du protocole de traitement utilisé à T0 des 25 chiens de l'échantillon présentant une leishmaniose de stade 2 pour lesquels les données étaient disponibles (0 = autres traitements ; 1 = allopurinol + antimoniote de méglumine)**



## 5. Discussion

### A. Caractéristiques épidémiologiques

En l'absence d'une population de référence à laquelle comparer notre échantillon, il ne nous est pas possible de conclure à la prédominance d'une race. Cependant dans notre échantillon, on remarque que le boxer est la deuxième race la plus représentée derrière les chiens de type croisé, ce qui fait écho aux études de França-Silva *et al.*, (2003) et Sanchez-Robert *et al.*, (Sanchez-Robert *et al.*, 2005) suggérant une susceptibilité accrue du boxer à l'infection par la leishmaniose.

L'âge médian des chiens de l'échantillon était de 4 ans avec des âges extrêmes de 7 mois et 13 ans, ce qui n'est pas sans rappeler les résultats de Slappendel *et al.* (1988) qui trouvaient également une médiane d'âge de 4 ans avec des âges extrêmes allant de 5 mois à 13 ans. Les âges les plus représentés dans l'échantillon étaient 2 et 3 ans de façon concordante avec d'autres études, notamment celle d'Amela *et al.* (Amela *et al.*, 1995). La tranche d'âge la plus représentée dans notre échantillon était composée des chiens entre 3 et 8 ans, ce qui s'explique par la longue

période d'incubation de la leishmaniose, favorisant son expression clinique (et justifiant donc d'une consultation en centre vétérinaire) plutôt chez le chien adulte.

Dans notre échantillon, la proportion de mâles était similaire à la proportion de femelles, ce qui est en accord avec plusieurs d'études (Acedo Sánchez *et al.*, 1996 ; Amela *et al.*, 1995 ; Morillas *et al.*, 1996).

La totalité des chiens infectés pour qui l'information a été collectée (88,2 %) ont vécu ou ont voyagé en zone endémique de leishmaniose. Même si ces résultats semblent conforter la rareté d'une transmission à partir d'un foyer ectopique, ils ne permettent pas de l'exclure tout à fait. Une surveillance accrue doit être maintenue sur ce volet épidémiologique afin d'appréhender au mieux les changements à venir, inhérents au dérèglement climatique.

## **B. Etude descriptive**

### **a. Stade clinique**

Dans notre échantillon, le stade de la maladie le plus représenté au moment du diagnostic était le stade 2. Les stades 3 et 4 étaient présents en proportions similaires et une très faible minorité présentait une leishmaniose de stade 1. La détermination des stades de la maladie étant relativement récente (2011), peu d'études descriptives se sont intéressées à décrire les stades de leishmaniose principalement retrouvés au moment du diagnostic.

### **b. Type de signes cliniques**

- *Manifestations systémiques*

Les manifestations systémiques étaient le type de signe clinique le plus fréquemment retrouvé dans notre échantillon (82,4 % des chiens), ce qui était comparable, bien qu'un peu supérieur aux résultats d'autres études notamment celle de Shaw *et al.* (Shaw *et al.*, 2009) réalisée en Angleterre, donc en région non-endémique de leishmaniose comme notre étude, qui retrouvait des signes généraux dans 78% des cas de leishmaniose.

Dans notre échantillon, une hyperthermie était présente dans 25,5 % des cas, ce qui est concordant avec les données retrouvées dans la littérature.

Des troubles digestifs sont retrouvés chez 33,3 % des chiens de notre échantillon, ce qui constitue une proportion comparable à celle décrite dans la littérature avec notamment l'étude de Slappendel *et al.* (1988) qui rapporte une fréquence de diarrhée et vomissements de 30 % et 26 % respectivement parmi 80 chiens atteints de leishmaniose.

Les différentes études recensant la fréquence d'une PUPD chez les chiens atteints de leishmaniose la placent entre 9,8 % et 12 % (Meléndez-Lazo *et al.*, 2018 ; Shaw *et al.*, 2009). Notre étude recensait une fréquence de PUPD de 15,7%, une proportion légèrement plus élevée qui peut s'expliquer par le manque de moyens techniques mis en œuvre pour quantifier précisément cette PUPD. Il conviendrait dans l'idéal de mesurer la prise de boisson et la diurèse de chaque animal afin d'obtenir un résultat quantifiable et précis, ce qui n'est pas réalisé en raison des contraintes techniques et temporelles inhérentes au fonctionnement du ChuvA. L'inscription de « PUPD » dans le dossier médical de l'animal reposait uniquement sur le témoignage des propriétaires et a pu être influencé dans certains cas par la manière dont le clinicien et l'étudiant en charge du cas posait les questions lors du recueil de l'anamnèse.

- *Signes dermatologiques*

Dans notre échantillon, les signes dermatologiques étaient le second type de signe clinique le plus fréquemment rencontré et ce dans 76,5 % des cas, en accord avec la littérature sur le sujet (Meléndez-Lazo *et al.*, 2018 ; Shaw *et al.*, 2009 ; Slappendel, 1988).

Solano-Gallego *et al.* (Solano-Gallego *et al.*, 2011) décrivent les principales lésions dermatologiques retrouvées en cas de leishmaniose comme une dermatite exfoliative, érosive, nodulaire, papuleuse ou pustuleuse. Ce niveau de précision de description lésionnelle n'a pas pu être atteint dans notre étude en raison du fréquent manque d'information et de description contenu dans les dossiers médicaux. En effet, le volet dermatologique de la maladie n'est pas toujours le motif premier de la consultation (notamment dans un contexte de centre de référé) et la description précise des lésions dermatologiques est rarement exhaustive lorsque l'animal est reçu par les autres services du ChuvA.

Souvent considérée comme un signe d'appel majoritaire, l'onychogryphose n'a été retrouvée que dans 9,8% des cas de notre échantillon, ce qui tranche avec l'étude de Koutinas *et al.* (Koutinas *et al.*, 2008) qui mettait en évidence une onychogryphose chez 54,5 % des cas. Cette importante différence peut s'expliquer encore une fois par un remplissage des dossiers médicaux non exhaustif notamment concernant les troubles dermatologiques chez les chiens admis par des services autres que le service de dermatologie et par un manque de vigilance des cliniciens et étudiants sur ce signe clinique.

- *Signes ophtalmologiques*

Les principales lésions ophtalmologiques décrites dans la littérature sont les blépharites, les conjonctivites et kératoconjonctivites, les uvéites et les endophtalmies. Leur prévalence dans une population de chiens atteints de leishmaniose d'après la littérature se situe entre 10 et 32,5 % (Shaw *et al.*, 2009 ; Slappendel, 1988). On peut expliquer cet intervalle par la différence de définition des signes ophtalmologiques selon les études, certaines incluant des signes fréquents et facilement objectivables tels que la conjonctivite, telle que l'étude de Shaw *et al.* (2009) qui trouve alors une prévalence des signes ophtalmologiques de 32,5 %, et certaines incluant uniquement des signes plus spécifiques comme la présence d'une kératoconjonctivite, d'une uvéite, etc.) comme Ciaramella *et al.* (1997) qui décrit une fréquence bien plus basse de 16 %. Dans notre étude, il a été décidé d'inclure les conjonctivites dans les troubles ophtalmologiques qui se sont avérés être présents chez 39,2 % des chiens, de façon comparable à l'étude de Slappendel *et al.*

- *Diathèse hémorragique*

La principale forme de diathèse hémorragique décrite dans la littérature est l'épistaxis qui est retrouvé selon les études dans 4 % à 15 % des cas (Ciaramella *et al.*, 1997 ; Slappendel, 1988). Dans notre étude, l'épistaxis était retrouvée chez 5,8% des chiens, ce qui est concordant avec les données de la littérature. Cependant, notre travail décrivait également la prévalence d'autres types de diathèses hémorragiques, incluant notamment l'hématochézie et l'hématémèse en plus de l'épistaxis, la somme des prévalences de ces trois manifestations cliniques chez les chiens de notre échantillon s'élevant à 23,5 %.

Chez ces 12 chiens présentant une diathèse hémorragique, une numération de la formule sanguine a été réalisée dans 10 cas et mettait en évidence une anémie chez 8 chiens (80 %). Une

thrombopénie n'était objectivée que chez 1 de ces chiens (1 %). L'hémostase secondaire était évaluée chez 4 de ces chiens et était altérée dans 2 cas (50 %).

Concernant les 3 chiens présentant une épistaxis, une numération de la formule sanguine et une évaluation de l'hémostase secondaire a été réalisée chez 2 chiens, qui présentaient tous deux une anémie. Un de ces chiens présentait un trouble de l'hémostase secondaire et aucun de ces deux chiens ne présentait de thrombopénie. L'interprétation de ces résultats est bien entendu limitée par le très faible effectif de l'échantillon.

- *Signes ostéoarticulaires*

Dans notre échantillon, une boiterie était retrouvée dans 21,6 %. Ce pourcentage inclut uniquement les boiteries n'ayant pas été imputées à un trouble ostéo-articulaire distinct de la leishmaniose et est concordant bien que discrètement supérieur aux données de la littérature qui situent sa prévalence au sein d'une population de chiens atteints de leishmaniose entre 11,8 % et 37,5 % (Meléndez-Lazo *et al.*, 2018 ; Slappendel, 1988).

- *Signes nerveux*

Les manifestations nerveuses liées à la leishmaniose sont rares dans la littérature et corroborées par notre étude qui ne rapporte qu'un seul cas de trouble neurologique (2 %). Il s'agissait de manifestations épileptiformes chez un chien ayant été présenté au service des urgences en état critique et décédé en hospitalisation 2 jours après le diagnostic. Aucune investigation complémentaire n'a été réalisée. Ce chien présentait par ailleurs un titre sérologique supérieur à 3 fois la LSIR mais une analyse cytologique sur prélèvement de nœuds lymphatiques négative, des signes généraux et cutanés ainsi qu'une anémie.

### **c. Données hémato-biochimiques**

- *Anémie*

Dans notre étude, 75,7 % des chiens de notre échantillon pour lesquels une numération de la formule sanguine a été réalisée présentaient une anémie, ce qui est en accord avec les résultats de la littérature qui décrivent l'anémie comme une des principales atteintes hématologiques chez les chiens atteints de leishmaniose (Meléndez-Lazo *et al.*, 2018 ; Petanides *et al.*, 2008).

- *Atteinte rénale*

Une protéinurie (RPCU > 0,5) est retrouvée chez 76,5 % des chiens, ce qui est concordant avec les résultats de la littérature qui placent sa fréquence entre 12 % et 85 % (Shaw *et al.*, 2009 ; Slappendel, 1988).

Concernant l'azotémie, les données décrites dans la littérature sont assez variables. Ainsi, Meléndez-Lazo *et al.* (2018), dans une étude portant sur 51 chiens atteints de leishmaniose trouvaient que seuls 2 % de ces chiens présentaient une valeur de créatinémie anormalement élevée, tandis que Petanides *et al.* (2008) dans une étude portant également sur 51 chiens, trouvaient une hypercréatinémie chez 33,3 % à 37,5 % des chiens atteints de leishmaniose. Cette importante différence pourrait être expliquée par le moment d'évaluation de la créatinémie : avant ou après mise en place d'une stabilisation médicale. Une autre explication pourrait être une différence dans la médicalisation des animaux entre 1988 et 2008 ; l'étude menée en 1988 étant possiblement davantage sujette à inclure des animaux moins médicalisés. Dans notre échantillon,

21,7 % des chiens étaient azotémiques, en accord avec les chiffres vu précédemment. Dans notre étude, la créatinémie était évaluée avant la mise en place d'un traitement. Il était intéressant de noter que parmi les 10 chiens de notre échantillon qui étaient considérés azotémiques, 9 d'entre eux (90%) étaient des mâles, tous (100 %) présentaient des signes généraux et tous ceux pour qui une numération de la formule sanguine avait été réalisée (n=8) présentaient une anémie.

- *Hypoalbuminémie, hyperglobulinémie et hyperprotéinémie*

Une hypoalbuminémie a été retrouvée chez 91,9 % des chiens de notre échantillon. Une hyperglobulinémie a été retrouvée chez 82,8 % des chiens de notre échantillon avec un rapport Albumine/globuline diminué dans 80% des cas. De plus, une hyperprotéinémie a été retrouvée chez 79,1 % des chiens de notre échantillon. Tous ces résultats sont compatibles avec les études de Meléndez-Lazo *et al.*, (2018) et Slappendel, (1988).

- *Atteinte hépatique*

Lors de l'évaluation des paramètres hépatiques (PAL et ALAT) dans notre échantillon, seule l'activité des PAL a été retrouvée parfois anormalement augmentée, et ce chez 37,5 % des chiens de notre échantillon. Ces chiffres sont comparables avec ceux provenant d'études menées précédemment (Petanides *et al.*, 2008 ; Slappendel, 1988). De façon intéressante, dans ces précédentes études, un pourcentage significatif des chiens présentait également une valeur élevée de l'activité des ALAT, qui n'est pas retrouvée dans notre travail. Il était également intéressant de constater que parmi les chiens qui présentaient une augmentation de l'activité des PAL dans notre échantillon, tous présentaient des manifestations systémiques, 90 % présentaient une anémie et aucun ne présentait d'azotémie.

#### ***d. Bilan des anomalies cliniques et hémato-biochimiques***

Le tableau suivant (tableau 15) récapitule les résultats de notre étude en comparaison avec différents travaux précédents.

**Tableau 15 : Comparaison des pourcentages (%) des différentes anomalies cliniques et hémato-biochimiques de notre étude avec ceux obtenus dans 5 études antérieures**

	Slappendel, 1988 95 cas	Ciaramella et al., 1997 150 cas	Petanides et al., 2008 51 cas	Shaw et al., 2009 257 cas	Meléndez-Lazo et al., 2018 51 cas	Etude ChuvA, 2023 51 cas
<b>Anomalies cliniques et hémato-biochimique</b>						
<b>Manifestations systémiques</b>	70,0			78,0		<b>82,4</b>
<b>Signes cliniques dermatologiques</b>	89,0			67,0	78,4	<b>76,5</b>
<b>Signes cliniques ophtalmologiques</b>	32,5	16,0		10,0	25,5	<b>39,2</b>
<b>Signes cliniques digestifs</b>	26 - 30	3,0		8,0	19,6	<b>33,3</b>
<b>Epistaxis</b>	15,0	4,0	5,0	8,0	7,8	<b>5,8</b>
<b>Hyperthermie</b>	36,0	4,0			21,6	<b>25,5</b>
<b>Boiterie</b>	37,5			17,0	11,8	<b>21,6</b>
<b>PUPD</b>				12,0	9,8	<b>15,7</b>
<b>Anémie</b>			81,5 - 91,7	22,0	45,1	<b>75,7</b>
<b>Protéinurie</b>	85,0		73,1 - 75	12,0	47,8	<b>76,5</b>
<b>Hypercréatinémie</b>	45,0		33,3 - 37,5		2,0	<b>21,7</b>
<b>Hypoalbuminémie</b>	94,0	68,0	66,7 - 79,2		54,9	<b>91,9</b>
<b>Hyperprotéinémie</b>	91,0	63,0	63-79,2		52,9	<b>79,1</b>
<b>Hyperglobulinémie</b>	100,0	70,0	85,2-95,8			<b>82,8</b>
<b>A/G diminué</b>		76,0			78,4	<b>80,0</b>
<b>Valeur des PAL augmentée</b>	51,0		25 - 25,9			<b>37,5</b>
<b>Valeur des ALAT augmentée</b>	61,0		33,3 - 37		8	<b>0,0</b>

Dans l'ensemble, nos résultats sont très proches de ceux des études précédentes. Concernant les anomalies cliniques, les manifestations systémiques et les signes dermatologiques sont les plus fréquemment rencontrés, et concernant les anomalies hémato-biochimiques, l'hypoalbuminémie et la protéinurie sont les plus classiques.

### C. Analyse de survie univariée sur la survenue du décès

#### a. Analyse de survie générale

Le TSM général chez les chiens de notre étude était de 1992 jours, soit 5,4 ans, ce qui est proche des données de la littérature (de Jong *et al.*, 2023 ; Slappendel et Teske, 1997).

#### b. Expositions associées à la survenue du décès

Dans notre échantillon, la présence d'une hypoalbuminémie au moment du diagnostic était significativement associée à la survenue d'un décès lié à la leishmaniose.

- *Hypoalbuminémie*

Les résultats de la littérature concernant l'association entre la présence d'une hypoalbuminémie et la survenue d'un décès lié à la leishmaniose diffèrent. En effet, l'étude de de Jong *et al.*, (de Jong *et al.*, 2023) sur 47 chiens ne montre pas d'association significative ( $p = 0,22$ ) tandis que l'étude de (Geisweid *et al.*, 2012) sur 72 chiens montre une association significative ( $p = 0,002$ ).

Dans notre étude, l'absence d'hypoalbuminémie était significativement associée à la survenue du décès ( $p = 0,02$ ). Ce résultat surprenant pourrait s'expliquer par un biais d'association en raison d'un effectif trop faible : l'échantillon ne comptait que 4 chiens ne présentant pas d'hypoalbuminémie.

### **c. Expositions non associées à la survenue du décès**

Dans notre étude, l'âge, le titre sérologique et le stade de la maladie à T0, l'atteinte rénale et hématologique ainsi que la présence d'une diathèse hémorragique et le traitement utilisé chez les chiens présentant une leishmaniose de stade 2 n'étaient pas associés à la survenue du décès lié à la leishmaniose chez les chiens. Concernant les chiens présentant un titre sérologique inférieur à 3 fois la LSIR et les chiens présentant une anémie, ces résultats sont à moduler puisque la durée de l'étude n'a pas permis d'atteindre le TSM.

- *Stade de la maladie à T0*

Contrairement à ce qui était attendu, le stade de la maladie à T0 n'était pas significativement associé à un décès lié à la leishmaniose. Ce résultat surprenant peut s'expliquer en partie par les limites inhérentes à notre étude, mais aussi par un nombre extrêmement limité de chiens présentant une leishmaniose de stade 1 à T0 (n = 0) et de stade 4 à T2 (n = 1). A T2, notre effectif était réduit avec seulement 3 chiens présentant une leishmaniose de stade 3 ou 4, ce qui rendait nos résultats difficilement interprétables.

- *Titre sérologique*

Dans notre étude, le titre sérologique n'était pas significativement associé à la survenue d'un décès lié à la leishmaniose, conformément aux précédents résultats de Geisweid *et al.*, (2012).

- *Atteinte rénale*

Dans notre étude, la présence d'une azotémie rénale n'était pas significativement associée à la survenue d'un décès lié à la leishmaniose. Ces résultats ne sont pas en ligne avec ceux d'études précédentes (Geisweid *et al.*, 2012 ; Pereira *et al.*, 2020) et pourraient s'expliquer par le faible effectif de chiens azotémiques dans l'échantillon.

De plus, la présence d'une protéinurie n'était pas non plus significativement associée à la survenue d'un décès lié à la leishmaniose. Encore une fois, ces résultats sont en désaccord avec ceux de travaux antérieurs (de Jong *et al.*, 2023 ; Geisweid *et al.*, 2012 ; Pereira *et al.*, 2020). On remarque que nos résultats montrent un TSM supérieur pour les chiens présentant une protéinurie, comparé aux chiens ne présentant pas de protéinurie. Ce résultat en lui-même est surprenant. Il est possible que les effectifs relativement faibles de notre étude faussent nos résultats.

- *Atteinte hématologique*

Conformément aux précédentes études (de Jong *et al.*, 2023 ; Geisweid *et al.*, 2012 ; Pereira *et al.*, 2020), la présence d'une anémie n'était pas significativement associée à la survenue d'un décès lié à la leishmaniose.

Dans leur étude de 2020, Pereira *et al.* mettent en évidence une influence significative de la gravité de l'anémie sur le temps de survie. Il pourrait être intéressant de répliquer ce travail sur une population différente afin de le corroborer ou de l'infirmer.

- *Diathèse hémorragique*

La présence d'une diathèse hémorragique n'était pas significativement associée à la survenue d'un décès lié à la leishmaniose dans notre étude. Ce résultat rejoint celui de (Geisweid *et al.*,

2012) qui ne montrait pas d'association significative entre la présence d'une épistaxis et le temps de survie des chiens atteints de leishmaniose.

- *Protocole de traitement utilisé chez les chiens présentant une leishmaniose de stade 2*

Le protocole de traitement utilisé à T0 chez les chiens présentant une leishmaniose de stade 2 n'était pas significativement associé à la survenue d'un décès lié à la leishmaniose dans notre étude malgré l'utilisation de certains traitements ne faisant pas partie des recommandations du groupe LeishVet. Ce résultat peut s'expliquer par le bon pronostic associé au stade 2. Il serait intéressant de compléter nos données par l'évaluation du temps de survie associé aux chiens présentant une leishmaniose de stade 2 en l'absence de traitement afin de le confronter à nos résultats.

#### **D. Limites de l'étude**

Notre étude présente en effet des limites. Elle s'intéresse à un faible nombre de cas mais elle a été réalisée en zone non endémique. La clientèle d'un centre hospitalier vétérinaire universitaire diffère forcément d'une clientèle de cabinet généraliste étant donné d'une part, la réception de cas vus en seconde intention et d'autre part, un suivi moins régulier des animaux en particulier lorsque la réponse thérapeutique est satisfaisante. Enfin, comme toute étude rétrospective, la récolte de certaines données est parfois aléatoire et repose sur les détails apportés au compte rendu, très variables en fonction des cas.

##### **a. Constitution de l'échantillon et récolte des données**

La principale limite de cette étude est sa nature rétrospective, qui entraîne l'absence d'un certain nombre de données et ne permet pas leur uniformisation. De nombreux dossiers étaient incomplets, l'ensemble des informations attendues était rarement présent dans les dossiers médicaux. Il convient également de souligner que, bien qu'ils soient tous relus par un enseignant, tous les comptes rendus de consultation sont rédigés par des étudiants, ce qui rend leur exactitude incertaine. Il en va de même pour la réalisation des examens cliniques et le recueil de l'anamnèse, ce qui a pu entraîner une sous-estimation ou une surestimation de certains signes cliniques qui ne sont pas recherchés systématiquement à l'admission, comme l'onchogryphose ou la PUPD par exemple.

Le nombre de cas inclus dans la partie étude de survie de notre travail était relativement faible. En effet, de nombreuses données étaient manquantes, conduisant souvent à un grand manque de puissance statistique.

Le recrutement ayant été effectué sur une période de plusieurs années, les examens complémentaires ne sont pas standardisés. En effet, il est très probable que certaines analyses aient été mesurées par des automates différents durant ce laps de temps. De la même façon, il est probable que les analyses cytologiques et histologiques aient été réalisées par différents spécialistes.

Certaines données, telles que les dates de décès récupérées auprès des propriétaires ont pu être erronées. Les propriétaires ayant été contactés jusqu'à 8 ans après le décès de leur animal, la date donnée était très souvent approximative, ne reflétant pas toujours la vérité.

Le recueil de certaines données (Protéine C Réactive, électrophorèse des protéines sériques, caractérisation de l'anémie) a été limité par la disponibilité du logiciel CLOVIS dans le cadre de ce travail.

Le suivi n'a pu être effectué que sur un nombre restreint de chiens. De nombreux cas ont été perdus de vue et la suite de leur prise en charge a été réalisée chez leur vétérinaire traitant.

### ***b. Biais d'association***

- *Biais de classement*

L'estimation de l'association entre l'exposition d'intérêt et la survenue du décès sera biaisée par du biais de classement dès lors qu'une erreur de classement sur l'exposition d'intérêt ou sur la survenue du décès est commise. On distingue deux types de biais de classement :

- Le biais de classement non différentiel, lorsque l'erreur commise sur l'exposition est indépendante du statut vivant ou décédé ;
- Le biais de classement différentiel, lorsque l'erreur commise sur l'exposition dépend du statut vivant ou décédé.

On peut donc raisonnablement exclure la présence de biais de classement différentiel dans la mesure où, si des erreurs ont été faites sur les commémoratifs, l'examen clinique ou les résultats d'examens complémentaires réalisés du vivant de l'animal, elles sont *a priori* indépendantes du statut vivant/décédé du chien à la date de point. Cependant, des erreurs de classement à l'origine d'un biais de classement non différentiel ont pu être commises.

On rappelle ici la liste des expositions d'intérêt :

- Stade de leishmaniose au moment de la présentation
- Titre sérologique
- Azotémie
- Hypoalbuminémie
- Syndrome néphrotique
- Atteinte hématologique, notamment la présence d'une anémie
- Diathèse hémorragique
- Traitement

Pour la quasi-totalité des données initialement quantitatives, on peut raisonnablement penser que le risque d'erreurs de classement est faible, sans toutefois pouvoir l'exclure totalement : des erreurs dans l'envoi des prélèvements, d'automate ou de report des résultats ont pu être commises.

Pour la détermination du stade de leishmaniose, des critères cliniques entrent en compte dont la détermination est subjective et soumise à des biais de classement non différentiels. Il en va de même pour la diathèse hémorragique.

Concernant le statut vivant/décédé du chien, il n'y a *a priori* aucune erreur si ce n'est celle d'avoir considéré à tort qu'un chien était décédé de leishmaniose et inversement.

Ainsi, pour chaque exposition d'intérêt où des erreurs de classement étaient possibles, le biais de classement non différentiel, bien que d'importance difficilement évaluable, a pu diminuer la force de l'association entre l'exposition d'intérêt et la survenue du décès.

- *Biais de confusion*

Il y aura un biais de confusion si un facteur de confusion existe mais n'a pas été pris en compte dans l'estimation de l'association entre l'exposition d'intérêt et la survenue du décès.

Dans le cadre de notre étude, nous avons délibérément restreint notre analyse à l'exploration des associations brutes, sans tenir compte des facteurs de confusion entre les diverses expositions d'intérêt et la durée de survie. À titre d'exemple, il convient de souligner que l'association significative mise en évidence entre la présence d'une hypoalbuminémie et le temps de survie médian est une association brute, et à ce stade, aucune inférence causale ne peut être réalisée.

Dans notre étude, les facteurs de confusion potentiels étaient des expositions qui remplissaient les deux critères suivants :

- Ne pas être une conséquence de l'exposition d'intérêt, ni de la maladie (ici le décès lié à la leishmaniose) ;
- Être associé au décès avec une valeur de p inférieure ou égale à 0,20.

Le tableau 16 récapitule l'ensemble des valeurs de p du log-rank relatives à chaque exposition d'intérêt. Seules l'absence d'hypoalbuminémie et la présence d'une anémie au moment du diagnostic étaient associées à la survenue du décès avec un degré de signification p inférieur à 0,20. Par conséquent, seules ces deux expositions pouvaient potentiellement jouer des rôles de facteurs de confusion. Pour pouvoir faire de l'inférence à partir de ces résultats, l'étape suivante aurait été de prendre en compte chacune de ces expositions dans un modèle multivarié et de regarder si, pour chaque exposition d'intérêt, l'association brute aurait été modifiée après ajustement sur au moins une de ces deux expositions.

**Tableau 16 : Liste des expositions testées classées par ordre de croissance du log-rank testant l'association avec la survenue du décès lié à la leishmaniose**

<b>Variables</b>	<b>p log-rank</b>
Absence d'hypoalbuminémie	<b>0,02</b>
Anémie	<b>0,16</b>
Type de traitement à T0 chez les chiens présentant une leishmaniose de stade 2	<b>0,33</b>
Azotémie	<b>0,54</b>
Protéinurie	<b>0,61</b>
Titre sérologique	<b>0,63</b>
Stade à T0	<b>0,94</b>
Diathèse hémorragique	<b>0,95</b>

# Conclusion

---

Notre étude avait pour but de décrire une population de chiens atteints de leishmaniose vivant hors d'une région endémique et de rechercher des facteurs pronostiques associés à la survie

Concernant l'étude descriptive, notre échantillon était constitué de 51 chiens et nos résultats étaient en grande partie concordants avec la littérature antérieure, que ce soit au niveau de la description épidémiologique, clinique ou hémato-biochimique. Notre population était constituée d'une proportion équivalente de mâles et de femelles, l'âge médian était de 4 ans et la totalité des chiens pour qui l'information était disponible présentait un historique de voyage en région endémique. Les principaux signes cliniques rencontrés étaient une atteinte de l'état général (82,4 %), une atteinte dermatologique (76,5 %) et une atteinte ophtalmologique (39,2 %). Les anomalies hémato-biochimiques les plus fréquentes étaient une hypoalbuminémie (91,9 %), une protéinurie (76,5 %) et une anémie (75,7 %).

Bien qu'ils ne l'excluent pas totalement, nos résultats renforcent les conclusions précédentes sur la rareté des cas autochtones hors du bassin méditerranéen.

Concernant l'étude de survie et l'étude des facteurs pronostiques, notre échantillon était constitué de 42 chiens et le temps de survie médian était de 5,4 ans. Cette partie de l'étude n'a mis en évidence qu'un seul résultat significatif surprenant, associant significativement l'absence d'hypoalbuminémie au moment du diagnostic et la survenue du décès lié à la leishmaniose contrairement à la littérature qui décrit plusieurs autres facteurs influençant le temps de survie. Un échantillon plus grand aurait permis de disposer de davantage de cas et donc d'augmenter la puissance statistique. Ceci aurait permis, peut-être, de détecter d'autres associations significatives et de réaliser une analyse multivariée.

Des études portant sur un échantillon de taille plus importante pourraient s'avérer d'un grand intérêt dans la détermination et la confirmation de facteurs de risques associés à la survie chez les chiens infectés par la leishmaniose, et ce afin d'affiner au mieux le pronostic de chaque chien atteint de cette maladie auquel chaque vétérinaire fera de plus en plus face dans les années à venir.



# Liste des références bibliographiques

---

- ABRANCHES, P., SILVA-PEREIRA, M.C., CONCEIÇÃO-SILVA, F.M., *et al.* (1991) Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *The Journal of Parasitology* vol. 77, n° 4, p. 557-561.
- ABREU, R.T. de, CARVALHO, M. das G., CARNEIRO, C.M., *et al.* (2011) Influence of Clinical Status and Parasite Load on Erythropoiesis and Leucopoiesis in Dogs Naturally Infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *PloS One* vol. 6, n° 5, p. e18873. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018873]
- ACEDO SÁNCHEZ, C., MARTÍN SÁNCHEZ, J., VÉLEZ BERNAL, I.D., *et al.* (1996) Leishmaniasis eco-epidemiology in the Alpujarra region (Granada Province, southern Spain). *International Journal for Parasitology* vol. 26, n° 3, p. 303-310. [https://doi.org/10.1016/0020-7519(95)00124-7]
- ADEL, A., BERKVENS, D., ABATIH, E., *et al.* (2016) Evaluation of Immunofluorescence Antibody Test Used for the Diagnosis of Canine Leishmaniasis in the Mediterranean Basin: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS One* vol. 11, n° 8, p. e0161051. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161051]
- ALEMAYEHU, B., ALEMAYEHU, M. (2017) Leishmaniasis: A Review on Parasite, Vector and Reservoir Host. *Health Science Journal* vol. 11. [https://doi.org/10.21767/1791-809X.1000519]
- ALMEIDA, A. do B.P.F. de, SOUSA, V.R.F., CRUZ, F.A.C.S. da, *et al.* (2012) Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* vol. 21, p. 359-365. [https://doi.org/10.1590/S1984-29612012005000005]
- ALMEIDA, M.A.O., JESUS, E.E.V., SOUSA-ATTA, M.L.B., *et al.* (2005) Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in Northeast Brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Veterinary Parasitology* vol. 127, n° 3, p. 227-232. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.10.010]
- AMELA, C., MENDEZ, I., TORCAL, J.M., *et al.* (1995) Epidemiology of canine leishmaniasis in the Madrid region, Spain. *European Journal of Epidemiology* vol. 11, n° 2, p. 157-161. [https://doi.org/10.1007/BF01719481]
- AMUSATEGUI, I., SAINZ, A., RODRÍGUEZ, F., *et al.* (2003) Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. *European Journal of Epidemiology* vol. 18, n° 2, p. 147-156. [https://doi.org/10.1023/a:1023090929302]
- ANDRADE, H.M., TOLEDO, V.P.C.P., PINHEIRO, M.B., *et al.* (2011) Evaluation of miltefosine for the treatment of dogs naturally infected with *L. infantum* (= *L. chagasi*) in Brazil. *Veterinary Parasitology* vol. 181, n° 2-4, p. 83-90. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.009]
- AOUN, O., MARY, C., ROQUEPLO, C., *et al.* (2009) Canine leishmaniasis in south-east of France: screening of *Leishmania infantum* antibodies (western blotting, ELISA) and parasitaemia levels by PCR quantification. *Veterinary Parasitology* vol. 166, n° 1-2, p. 27-31. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.08.006]
- APOSTOLOPOULOS, N., MITROPOULOU, A., THOM, N., *et al.* (2018) Update on therapy and prevention of canine leishmaniasis. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere* vol. 46, n° 5, p. 315-322. [https://doi.org/10.15654/TPK-180089]
- BANETH, G., KOUTINAS, A.F., SOLANO-GALLEGU, L., *et al.* (2008) Canine leishmaniasis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in Parasitology* vol. 24, n° 7, p. 324-330. [https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.04.001]
- BANETH, G., SOLANO-GALLEGU, L. (2022) Leishmaniasis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, Vector-Borne Diseases* vol. 52, n° 6, p. 1359-1375. [https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2022.06.012]

- BATES, P.A. (2007) Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology* vol. 37, n° 10, p. 1097-1106. [https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.04.003]
- BAXARIAS, M., HOMEDES, J., MATEU, C., *et al.* (2022) Use of preventive measures and serological screening tools for *Leishmania infantum* infection in dogs from Europe. *Parasites & Vectors* vol. 15, n° 1, p. 134. [https://doi.org/10.1186/s13071-022-05251-5]
- BELO, V.S., STRUCHINER, C.J., WERNECK, G.L., *et al.* (2013) A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. *Veterinary Parasitology* vol. 195, n° 1-2, p. 1-13. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.010]
- BERRAHAL, F., MARY, C., ROZE, M., *et al.* (1996) Canine leishmaniasis: identification of asymptomatic carriers by polymerase chain reaction and immunoblotting. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* vol. 55, n° 3, p. 273-277. [https://doi.org/10.4269/ajtmh.1996.55.273]
- BIANCIARDI, P., BROVIDA, C., VALENTE, M., *et al.* (2009) Administration of Miltefosine and Meglumine Antimoniate in Healthy Dogs: Clinicopathological Evaluation of the Impact on the Kidneys. *Toxicologic Pathology* vol. 37, n° 6, p. 770-775. [https://doi.org/10.1177/0192623309344088]
- BLAVIER, A., KEROACK, S., DENEROLLE, P., *et al.* (2001) Atypical forms of canine leishmaniosis. *Veterinary Journal* vol. 162, n° 2, p. 108-120. [https://doi.org/10.1053/tvjl.2000.0556]
- BOURDEAU, P., SARIDOMICHELAKIS, M.N., OLIVEIRA, A., *et al.* (2014) Management of canine leishmaniosis in endemic SW European regions: a questionnaire-based multinational survey. *Parasites & Vectors* vol. 7, n° 1, p. 110. [https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-110]
- BOURDOISEAU, G. (2004) Parasitologie clinique du chien. Créteil, Les Nouvelles Éditions Vétérinaires et Alimentaires.
- BRUCE-CHWATT, L.J. (1972) Blood transfusion and tropical disease. *Tropical Diseases Bulletin* vol. 69, n° 9, p. 825-862.
- BUSSIÉRAS, J., CHERMETTE, R. (1992) Abrégé de parasitologie vétérinaire. Fascicule II. Protozoologie vétérinaire. Maisons Alfort, École nationale vétérinaire d'Alfort.
- CARDOSO, J.M. de O., BRITO, R.C.F. de, MATHIAS, F.A.S., *et al.* (2022) Comparative evaluation of meglumine antimoniate encapsulated in a mixture of conventional and PEGylated liposomes and immunotherapy using an anti-canine IL-10 receptor-blocking monoclonal antibody on canine visceral leishmaniasis. *Molecular Immunology* vol. 141, p. 70-78. [https://doi.org/10.1016/j.molimm.2021.11.011]
- CARDOSO, L., RODRIGUES, M., SANTOS, H., *et al.* (2004) Sero-epidemiological study of canine *Leishmania* spp. infection in the municipality of Alijó (Alto Douro, Portugal). *Veterinary Parasitology* vol. 121, n° 1-2, p. 21-32. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.02.008]
- CAVALIERO, T., ARNOLD, P., MATHIS, A., *et al.* (1999) Clinical, serologic, and parasitologic follow-up after long-term allopurinol therapy of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 13, n° 4, p. 330-334. [https://doi.org/10.1892/0891-6640(1999)013<0330:csapfu>2.3.co;2]
- CHALGHAF, B., CHEMKHI, J., MAYALA, B., *et al.* (2018) Ecological niche modeling predicting the potential distribution of *Leishmania* vectors in the Mediterranean basin: impact of climate change. *Parasites & Vectors* vol. 11, p. 461. [https://doi.org/10.1186/s13071-018-3019-x]
- CHELBI, I., MAGHRAOUI, K., ZHIOUA, S., *et al.* (2021) Enhanced attraction of sand fly vectors of *Leishmania infantum* to dogs infected with zoonotic visceral leishmaniasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* vol. 15, n° 7, p. e0009647. [https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009647]
- CIARAMELLA, P., OLIVA, G., LUNA, R.D., *et al.* (1997) A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *The Veterinary Record* vol. 141, n° 21, p. 539-543. [https://doi.org/10.1136/vr.141.21.539]
- CIARAMELLA, P., PELAGALLI, A., CORTESE, L., *et al.* (2005) Altered platelet aggregation and coagulation disorders related to clinical findings in 30 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *The Veterinary Journal* vol. 169, n° 3, p. 465-467. [https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.03.009]

- CORTADELLAS, O. (2003) Initial and long-term efficacy of a lipid emulsion of amphotericin B desoxycholate in the management of canine leishmaniasis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 17, n° 6, p. 808-812. [https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02518.x]
- CORTES, S., VAZ, Y., NEVES, R., *et al.* (2012) Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. *Veterinary Parasitology* vol. 189, n° 2-4, p. 189-196. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.04.028]
- CORTESE, L., SICA, M., PIANTEDOSI, D., *et al.* (2009) Secondary immune-mediated thrombocytopenia in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *The Veterinary Record* vol. 164, n° 25, p. 778-782. [https://doi.org/10.1136/vr.164.25.778]
- DA COSTA, J.M., NEOGY, A.B., VOULDOUKIS, I., *et al.* (1996) Antigenic components of partially purified antigens of *Leishmania donovani infantum* recognized by sera from dogs with asymptomatic or active visceral leishmaniasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* vol. 55, n° 5, p. 511-515. [https://doi.org/10.4269/ajtmh.1996.55.511]
- DA COSTA-VAL, A.P., CAVALCANTI, R.R., DE FIGUEIREDO GONTIJO, N., *et al.* (2007) Canine visceral leishmaniasis: Relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. *The Veterinary Journal* vol. 174, n° 3, p. 636-643. [https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.11.006]
- DE LUNA, R., FERRANTE, M., SEVERINO, L., *et al.* (2000) Decreased Lipid Fluidity of the Erythrocyte Membrane in Dogs with Leishmaniasis-associated Anaemia. *Journal of Comparative Pathology* vol. 122, n° 2, p. 213-216. [https://doi.org/10.1053/jcpa.1999.0357]
- DE JONG, M.K., RAPPOLDT, A., BROERE, F., *et al.* (2023) Survival time and prognostic factors in canine leishmaniosis in a non-endemic country treated with a two-phase protocol including initial allopurinol monotherapy. *Parasites & Vectors* vol. 16, p. 163. [https://doi.org/10.1186/s13071-023-05777-2]
- DENEROLLE, P., BOURDOISEAU, G. (1999) Combination Allopurinol and Antimony Treatment versus Antimony Alone and Allopurinol Alone in the Treatment of Canine Leishmaniasis (96 Cases). *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 13, n° 5, p. 413-415. [https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1999.tb01455.x]
- DEPLAZES, P., GRIMM, F., PAPAPRODROMOU, M., *et al.* (1998) Canine leishmaniosis in Cyprus due to *Leishmania infantum* MON 1. *Acta Tropica* vol. 71, n° 2, p. 169-178. [https://doi.org/10.1016/s0001-706x(98)00064-3]
- DE VASCONCELOS, T.C.B., FURTADO, M.C., BELO, V.S., *et al.* (2019) Canine susceptibility to visceral leishmaniasis: A systematic review upon genetic aspects, considering breed factors and immunological concepts. *Infection, Genetics and Evolution* vol. 74, p. 103293. [https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.10.005]
- DIAS, Á.F. de L.R., AYRES, E. da C.B.S., DE OLIVEIRA MARTINS, D.T., *et al.* (2020) Comparative study of the use of miltefosine, miltefosine plus allopurinol, and allopurinol in dogs with visceral leishmaniasis. *Experimental Parasitology* vol. 217, p. 107947. [https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107947]
- DINIZ, S.A., MELO, M.S., BORGES, A.M., *et al.* (2005) Genital lesions associated with visceral leishmaniasis and shedding of *Leishmania* sp. in the semen of naturally infected dogs. *Veterinary Pathology* vol. 42, n° 5, p. 650-658. [https://doi.org/10.1354/vp.42-5-650]
- DORLO, T.P.C., BALASEGARAM, M., BEIJNEN, J.H., *et al.* (2012) Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* vol. 67, n° 11, p. 2576-2597. [https://doi.org/10.1093/jac/dks275]
- DOS SANTOS, C.C.P., RAMOS, G.S., DE PAULA, R.C., *et al.* (2020) Therapeutic Efficacy of a Mixed Formulation of Conventional and PEGylated Liposomes Containing Meglumine Antimoniate, Combined with Allopurinol, in Dogs Naturally Infected with *Leishmania infantum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* vol. 64, n° 7, p. e00234-20. [https://doi.org/10.1128/AAC.00234-20]
- DOS SANTOS, J.P., ALVES, L.C., RAMOS, R.A.N., *et al.* (2013) Histological changes and immunolabeling of *Leishmania infantum* in kidneys and urinary bladder of dogs. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria* vol. 22, n° 3, p. 420-423. [https://doi.org/10.1590/S1984-29612013000300017]

- DOS SANTOS NOGUEIRA, F., AVINO, V.C., GALVIS-OVALLOS, F., *et al.* (2019) Use of miltefosine to treat canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Brazil. *Parasites & Vectors* vol. 12, n° 1, p. 79. [https://doi.org/10.1186/s13071-019-3323-0]
- DOS SANTOS, N.S., DE PINHO, F.A., HLAVAC, N.R.C., *et al.* (2021) Feline Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*: Parasite Sequencing, Seropositivity, and Clinical Characterization in an Endemic Area From Brazil. *Frontiers in Veterinary Science* vol. 8, p. 734916. [https://doi.org/10.3389/fvets.2021.734916]
- DUPREY, Z.H., STEURER, F.J., ROONEY, J.A., *et al.* (2006) Canine visceral leishmaniasis, United States and Canada, 2000-2003. *Emerging Infectious Diseases* vol. 12, n° 3, p. 440-446. [https://doi.org/10.3201/eid1203.050811]
- EDDAIKRA, N., AIT-OU DHIA, K., KHERRACHI, I., *et al.* (2018) Antimony susceptibility of *Leishmania* isolates collected over a 30-year period in Algeria. *PLoS Neglected Tropical Diseases* vol. 12, n° 3, p. e0006310. [https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006310]
- ELTOUM, I.A., ZIJLSTRA, E.E., ALI, M.S., *et al.* (1992) Congenital Kala-Azar and Leishmaniasis in the Placenta. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* vol. 46, n° 1, p. 57-62. [https://doi.org/10.4269/ajtmh.1992.46.57]
- ENGWERDA, C.R., KAYE, P.M. (2000) Organ-specific immune responses associated with infectious disease. *Immunology Today* vol. 21, n° 2, p. 73-78. [https://doi.org/10.1016/s0167-5699(99)01549-2]
- EUZÉBY, J. (1986) Protozoologie médicale comparée. Les protozooses des animaux et leurs relations avec les protozooses de l'homme. (Avec étude des arthropodes hématophages vecteurs de protozoaires). Volume I: Généralité - Sarcostigophores (flagelles, rhizopodes) - ciliés. Lyon, Fondation Marcel Mérieux.
- FERNANDEZ, M., TABAR, M.D., ARCAS, A., *et al.* (2018) Comparison of efficacy and safety of preventive measures used against canine leishmaniasis in southern European countries: Longitudinal retrospective study in 1647 client-owned dogs (2012–2016). *Veterinary Parasitology* vol. 263, p. 10-17. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.09.014]
- FERNÁNDEZ-BELLON, H., SOLANO-GALLEGO, L., RODRÍGUEZ-CORTÉS, A., *et al.* (2008) Little evidence of seasonal variation of natural infection by *Leishmania infantum* in dogs in Spain. *Veterinary Parasitology* vol. 155, n° 1-2, p. 32-36. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.04.009]
- FERREIRA, S. de A., ITUASSU, L.T., DE MELO, M.N., *et al.* (2008) Evaluation of the conjunctival swab for canine visceral leishmaniasis diagnosis by PCR-hybridization in Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology* vol. 152, n° 3-4, p. 257-263. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.022]
- FIGUEIREDO, M.M., MOURA, E.P., COSTA, M.M., *et al.* (2010) Histopathological and parasitological investigations of ear healthy skin of dogs naturally and experimentally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Histology and Histopathology* vol. 25, n° 7, p. 877-887. [https://doi.org/10.14670/HH-25.877]
- FISA, R., GÁLLEGO, M., CASTILLEJO, S., *et al.* (1999) Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain) the example of the Priorat focus. *Veterinary Parasitology* vol. 83, n° 2, p. 87-97. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017(99)00074-6]
- FONT, A., MASCORT, J., ALTIMIRA, J., *et al.* (2004) Acute paraplegia associated with vasculitis in a dog with leishmaniasis. *The Journal of Small Animal Practice* vol. 45, n° 4, p. 199-201. [https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2004.tb00224.x]
- FRANÇA-SILVA, J.C., DA COSTA, R.T., SIQUEIRA, A.M., *et al.* (2003) Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology* vol. 111, n° 2, p. 161-173. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00351-5]
- FREITAS, J.C.C. de, NUNES-PINHEIRO, D.C.S., LOPES NETO, B.E., *et al.* (2012) Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. *Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical* vol. 45, n° 1, p. 24-29. [https://doi.org/10.1590/s0037-86822012000100006]
- GARCIA-ALONSO, M., NIETO, C.G., BLANCO, A., *et al.* (1996) Presence of antibodies in the aqueous humour and cerebrospinal fluid during *Leishmania* infections in dogs. *Pathological*

- features at the central nervous system. *Parasite Immunology* vol. 18, n° 11, p. 539-546. [https://doi.org/10.1046/j.1365-3024.1996.d01-28.x]
- GAVGANI, A.S.M., HODJATI, M.H., MOHITE, H., *et al.* (2002) Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial. *Lancet* vol. 360, n° 9330, p. 374-379. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736(02)09609-5]
- GEISWEID, K., MUELLER, R., SAUTER-LOUIS, C., *et al.* (2012) Prognostic analytes in dogs with *Leishmania infantum* infection living in a non-endemic area. *Veterinary Record* vol. 171, n° 16, p. 399-399. [https://doi.org/10.1136/vr.100637]
- GIUNCHETTI, R.C., MARTINS-FILHO, O.A., CARNEIRO, C.M., *et al.* (2008) Histopathology, parasite density and cell phenotypes of the popliteal lymph node in canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* vol. 121, n° 1-2, p. 23-33. [https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.07.009]
- GÓMEZ PÉREZ, V., GARCÍA-HERNANDEZ, R., CORPAS-LÓPEZ, V., *et al.* (2016) Decreased antimony uptake and overexpression of genes of thiol metabolism are associated with drug resistance in a canine isolate of *Leishmania infantum*. *International Journal for Parasitology. Drugs and Drug Resistance* vol. 6, n° 2, p. 133-139. [https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2016.04.003]
- GÓMEZ-OCHOA, P., CASTILLO, J.A., GASCÓN, M., *et al.* (2009) Use of domperidone in the treatment of canine visceral leishmaniasis: a clinical trial. *Veterinary Journal* vol. 179, n° 2, p. 259-263. [https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.09.014]
- GONÇALVES, A.A.M., LEITE, J.C., RESENDE, L.A., *et al.* (2019) An Overview of Immunotherapeutic Approaches Against Canine Visceral Leishmaniasis: What Has Been Tested on Dogs and a New Perspective on Improving Treatment Efficacy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* vol. 9, p. 427. [https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00427]
- GONÇALVES, G., CAMPOS, M.P., GONÇALVES, A.S., *et al.* (2021) Increased *Leishmania infantum* resistance to miltefosine and amphotericin B after treatment of a dog with miltefosine and allopurinol. *Parasites & Vectors* vol. 14, n° 1, p. 599. [https://doi.org/10.1186/s13071-021-05100-x]
- GRAMICCIA, M., GRADONI, L., ORSINI, S. (1992) Decreased sensitivity to meglumine antimoniate (Glucantime) of *Leishmania infantum* isolated from dogs after several courses of drug treatment. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* vol. 86, n° 6, p. 613-620. [https://doi.org/10.1080/00034983.1992.11812717]
- GUYONNET, A., LAMOUREUX, A., BENCHEKROUN, G., *et al.* (2016) Traitement et prévention de la leishmaniose canine - *Le Point Vétérinaire* vol. 47, n° 364, p. 28-32.
- HANDMAN, E., BULLEN, D.V.R. (2002) Interaction of *Leishmania* with the host macrophage. *Trends in Parasitology* vol. 18, n° 8, p. 332-334. [https://doi.org/10.1016/s1471-4922(02)02352-8]
- HERNÁNDEZ, L., BOLÁS-FERNÁNDEZ, F., MONTOYA, A., *et al.* (2015) Unresponsiveness of Experimental Canine Leishmaniosis to a New Amphotericin B Formulation. *Advances in Pharmaceutics* vol. 2015, p. e160208. [https://doi.org/10.1155/2015/160208]
- HIROKAWA, G., KAJI, H., KAJI, A. (2007) Inhibition of antiassociation activity of translation initiation factor 3 by paromomycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* vol. 51, n° 1, p. 175-180. [https://doi.org/10.1128/AAC.01096-06]
- IARUSSI, F., PARADIES, P., FOGLIA MANZILLO, V., *et al.* (2020) Comparison of Two Dosing Regimens of Miltefosine, Both in Combination With Allopurinol, on Clinical and Parasitological Findings of Dogs With Leishmaniosis: A Pilot Study. *Frontiers in Veterinary Science* vol. 7, p. 577395. [https://doi.org/10.3389/fvets.2020.577395]
- IKEDA-GARCIA, F.A., LOPES, R.S., MARQUES, F.J., *et al.* (2007) Clinical and parasitological evaluation of dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* submitted to treatment with meglumine antimoniate. *Veterinary Parasitology* vol. 143, n° 3-4, p. 254-259. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.019]

- JOSÉ-LÓPEZ, R., LA FUENTE, C.D., AÑOR, S. (2012) Presumed brain infarctions in two dogs with systemic leishmaniasis. *The Journal of Small Animal Practice* vol. 53, n° 9, p. 554-557. [https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2012.01259.x]
- JÜTTNER, C., RODRÍGUEZ SÁNCHEZ, M., ROLLÁN LANDERAS, E., *et al.* (2001) Evaluation of the potential causes of epistaxis in dogs with natural visceral leishmaniasis. *The Veterinary Record* vol. 149, n° 6, p. 176-179. [https://doi.org/10.1136/vr.149.6.176]
- KARKAMO, V., KAISTINEN, A., NÄREAHO, A., *et al.* (2014) The first report of autochthonous non-vector-borne transmission of canine leishmaniosis in the Nordic countries. *Acta Veterinaria Scandinavica* vol. 56, n° 1, p. 84. [https://doi.org/10.1186/s13028-014-0084-9]
- KASABALIS, D., CHATZIS, M.K., APOSTOLIDIS, K., *et al.* (2020) A randomized, blinded, controlled clinical trial comparing the efficacy of aminosidine (paromomycin)-allopurinol combination with the efficacy of meglumine antimoniate-allopurinol combination for the treatment of canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*. *Experimental Parasitology* vol. 214, p. 107903. [https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107903]
- KASABALIS, D., CHATZIS, M.K., APOSTOLIDIS, K., *et al.* (2019) Evaluation of nephrotoxicity and ototoxicity of aminosidine (paromomycin)-allopurinol combination in dogs with leishmaniosis due to *Leishmania infantum*: A randomized, blinded, controlled study. *Experimental Parasitology* vol. 206, p. 107768. [https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.107768]
- KAYE, P., SCOTT, P. (2011) Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. *Nature Reviews. Microbiology* vol. 9, n° 8, p. 604-615. [https://doi.org/10.1038/nrmicro2608]
- KECK, N., DEREURE, J. (2003) Epidemiology of canine leishmaniasis by cross-sectional study in the French focus of Cévennes. *Revue de Médecine Vétérinaire* vol. 154, p. 599-604.
- KEENAN, C.M., HENDRICKS, L.D., LIGHTNER, L., *et al.* (1984) Visceral Leishmaniasis in the German Shepherd Dog. I. Infection, Clinical Disease, and Clinical Pathology. *Veterinary Pathology* vol. 21, n° 1, p. 74-79. [https://doi.org/10.1177/030098588402100113]
- KILLICK-KENDRICK, R. (1999) The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology* vol. 17, n° 3, p. 279-289. [https://doi.org/10.1016/s0738-081x(99)00046-2]
- KILLICK-KENDRICK, R., KILLICK-KENDRICK, M., FOCHEUX, C., *et al.* (1997) Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Medical and Veterinary Entomology* vol. 11, n° 2, p. 105-111. [https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.1997.tb00298.x]
- KOUTINAS, A., POLIZOPOULOU, Z., SARIDOMICHELAKIS, M., *et al.* (1999) Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). *Journal of the American Animal Hospital Association* vol. 35, n° 5, p. 376-383. [https://doi.org/10.5326/15473317-35-5-376]
- KOUTINAS, A., SCOTT, D., KANTOS, V., *et al.* (2008) Skin Lesions in Canine Leishmaniasis (Kala-Azar): A Clinical and Histopathological Study on 22 Spontaneous Cases in Greece. *Veterinary Dermatology* vol. 3, p. 121-130. [https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.1992.tb00158.x]
- KOUTINAS, A.F., KOUTINAS, C.K. (2014a) Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmaniainfantum/chagasi*. *Veterinary Pathology* vol. 51, n° 2, p. 527-538. [https://doi.org/10.1177/0300985814521248]
- KOUTINAS, A.F., KOUTINAS, C.K. (2014b) Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmaniainfantum/chagasi*. *Veterinary Pathology* vol. 51, n° 2, p. 527-538. [https://doi.org/10.1177/0300985814521248]
- KOUTINAS, A.F., SARIDOMICHELAKIS, M.N., MYLONAKIS, M.E., *et al.* (2001) A randomised, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* vol. 98, n° 4, p. 247-261. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00399-5]
- LACHAUD, L., CHABBERT, E., DUBESSAY, P., *et al.* (2002) Value of two PCR methods for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis and the detection of asymptomatic carriers. *Parasitology* vol. 125, p. 197-207. [https://doi.org/10.1017/s0031182002002081]
- LAMOTHE, J. (2001) Activity of amphotericin B in lipid emulsion in the initial treatment of canine leishmaniasis. *The Journal of Small Animal Practice* vol. 42, n° 4, p. 170-175. [https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2001.tb01797.x]

- LAMOUREUX, A., GUYONNET, A., BENCHEKROUN, G., *et al.* (2016) La leishmaniose canine, une maladie à présentation protéiforme. *Le Point Vétérinaire* vol. 47, n° 364, p. 20-27.
- LE RUTTE, E.A., VAN DER WILT, L.S., BULSTRA, C.A., *et al.* (2021) Incidence and geographical distribution of canine leishmaniosis in 2016—2017 in Spain and France. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* vol. 25, p. 100613. [<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100613>]
- LEISHVET (2022) Leishmaniose canine et féline. *LeishVet*. [<https://www.leishvet.org/leishmaniose-canine-et-feline/>] (consulté le 26/03/2023).
- LEMESRE, J.-L., HOLZMULLER, P., GONÇALVES, R.B., *et al.* (2007) Long-lasting protection against canine visceral leishmaniasis using the LIESAp-MDP vaccine in endemic areas of France: double-blind randomised efficacy field trial. *Vaccine* vol. 25, n° 21, p. 4223-4234. [<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.02.083>]
- LEWIS, D.J. (1987) Depth of penetration of vertebrate skin by phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* vol. 81, n° 2, p. 173-179. [<https://doi.org/10.1080/00034983.1987.11812109>]
- LIMA, W.G., OLIVEIRA, P.S., CALIARI, M.V., *et al.* (2007) Histopathological and immunohistochemical study of type 3 complement receptors (CD11b/CD18) in livers and spleens of asymptomatic and symptomatic dogs naturally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* vol. 117, n° 1-2, p. 129-136. [<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.02.012>]
- MAIA, C., CAMPINO, L. (2012) Cytokine and Phenotypic Cell Profiles of *Leishmania infantum* Infection in the Dog. *Journal of Tropical Medicine* vol. 2012, p. 541571. [<https://doi.org/10.1155/2012/541571>]
- MAIA, C., CAMPINO, L. (2008) Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Veterinary Parasitology* vol. 158, n° 4, p. 274-287. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.07.028>]
- MAIA, C., RAMADA, J., CRISTÓVÃO, J.M., *et al.* (2009) Diagnosis of canine leishmaniasis: conventional and molecular techniques using different tissues. *Veterinary Journal* vol. 179, n° 1, p. 142-144. [<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.08.009>]
- MANNA, L., REALE, S., VITALE, F., *et al.* (2008) Real-time PCR assay in *Leishmania*-infected dogs treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *The Veterinary Journal* vol. 177, n° 2, p. 279-282. [<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.04.013>]
- MANNA, L., VITALE, F., REALE, S., *et al.* (2009) Study of efficacy of miltefosine and allopurinol in dogs with leishmaniosis. *The Veterinary Journal* vol. 182, n° 3, p. 441-445. [<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.08.009>]
- MANZILLO, V.F., MUCCIO, T.D., CAPIELLO, S., *et al.* (2013) Prospective Study on the Incidence and Progression of Clinical Signs in Naïve Dogs Naturally Infected by *Leishmania infantum*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* vol. 7, n° 5. [<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002225>]
- MANZILLO, V.F., RESTUCCI, B., PAGANO, A., *et al.* (2006) Pathological changes in the bone marrow of dogs with leishmaniosis. *Veterinary Record* vol. 158, n° 20, p. 690-694. [<https://doi.org/10.1136/vr.158.20.690>]
- MAROLI, M., MIZZON, V., SIRAGUSA, C., *et al.* (2001) Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. *Medical and Veterinary Entomology* vol. 15, n° 4, p. 358-363. [<https://doi.org/10.1046/j.0269-283x.2001.00321.x>]
- MÁRQUEZ, M., PEDREGOSA, J.R., LÓPEZ, J., *et al.* (2013) *Leishmania* amastigotes in the central nervous system of a naturally infected dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* vol. 25, n° 1, p. 142-146. [<https://doi.org/10.1177/1040638712466728>]
- MARTÍNEZ, V., QUILEZ, J., SANCHEZ, A., *et al.* (2011) Canine leishmaniasis: the key points for qPCR result interpretation. *Parasites & Vectors* vol. 4, p. 57. [<https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-57>]
- MARTY, P., IZRI, A., OZON, C., *et al.* (2007) A century of leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* vol. 101, n° 7, p. 563-574. [<https://doi.org/10.1179/136485907X229121>]

- MELÉNDEZ-LAZO, A., ORDEIX, L., PLANELLAS, M., *et al.* (2018) Clinicopathological findings in sick dogs naturally infected with *Leishmania infantum*: Comparison of five different clinical classification systems. *Research in Veterinary Science* vol. 117, p. 18-27. [<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.10.011>]
- METTLER, M., GRIMM, F., CAPELLI, G., *et al.* (2005) Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays, an immunofluorescent-antibody test, and two rapid tests (immunochromatographic-dipstick and gel tests) for serological diagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania* infections in dogs. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 43, n° 11, p. 5515-5519. [<https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5515-5519.2005>]
- MICHALSKY, É.M., ROCHA, M.F., DA ROCHA LIMA, A.C.V.M., *et al.* (2007) Infectivity of seropositive dogs, showing different clinical forms of leishmaniasis, to *Lutzomyia longipalpis* phlebotomine sand flies. *Veterinary Parasitology* vol. 147, n° 1, p. 67-76. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.03.004>]
- MIR, F., FONTAINE, E., REYES-GOMEZ, E., *et al.* (2012) Subclinical leishmaniasis associated with infertility and chronic prostatitis in a dog. *The Journal of Small Animal Practice* vol. 53, n° 7, p. 419-422. [<https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2012.01224.x>]
- MIRET, J.A., MORENO, J., NIETO, J., *et al.* (2021) Antileishmanial efficacy and tolerability of combined treatment with non-ionic surfactant vesicle formulations of sodium stibogluconate and paromomycin in dogs. *Experimental Parasitology* vol. 220, p. 108033. [<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.108033>]
- MIRÓ, G., GÁLVEZ, R., MATEO, M., *et al.* (2007) Evaluation of the efficacy of a topically administered combination of imidacloprid and permethrin against *Phlebotomus perniciosus* in dog. *Veterinary Parasitology* vol. 143, n° 3-4, p. 375-379. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.09.014>]
- MIRÓ, G., LÓPEZ-VÉLEZ, R. (2018) Clinical management of canine leishmaniosis versus human leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: Putting « One Health » principles into practice. *Veterinary Parasitology* vol. 254, p. 151-159. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.03.002>]
- MIRÓ, G., OLIVA, G., CRUZ, I., *et al.* (2009) Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Veterinary Dermatology* vol. 20, n° 5-6, p. 397-404. [<https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00824.x>]
- MOMO, C., JACINTHO, A.P.P., MOREIRA, P.R.R., *et al.* (2014) Morphological changes in the bone marrow of the dogs with visceral leishmaniasis. *Veterinary Medicine International* vol. 2014, p. 150582. [<https://doi.org/10.1155/2014/150582>]
- MONTOYA, A., CHECA, R., MARINO, V., *et al.* (2021) Antibodies elicited by the CaniLeish® vaccine: long-term clinical follow-up study of dogs in Spain. *Parasitology Research* vol. 120, n° 4, p. 1471-1479. [<https://doi.org/10.1007/s00436-021-07091-1>]
- MORALES-YUSTE, M., MARTÍN-SÁNCHEZ, J., CORPAS-LOPEZ, V. (2022) Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Veterinary Sciences* vol. 9, n° 8, p. 387. [<https://doi.org/10.3390/vetsci9080387>]
- MOREIRA, M.A.B., LUVIZOTTO, M.C.R., GARCIA, J.F., *et al.* (2007) Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. *Veterinary Parasitology* vol. 145, n° 3-4, p. 245-252. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.12.012>]
- MORENO, P. (1999) Evaluation of secondary haemostasis in canine leishmaniasis. *The Veterinary Record* vol. 144, n° 7, p. 169-171. [<https://doi.org/10.1136/vr.144.7.169>]
- MORILLAS, F., SANCHEZ RABASCO, F., OCAÑA, J., *et al.* (1996) Leishmaniosis in the focus of the Axarquía region, Malaga province, southern Spain: a survey of the human, dog, and vector. *Parasitology Research* vol. 82, n° 6, p. 569-570. [<https://doi.org/10.1007/s004360050164>]
- NARANJO, C., FONDEVILA, D., ALTET, L., *et al.* (2012) Evaluation of the presence of *Leishmania* spp. by real-time PCR in the lacrimal glands of dogs with leishmaniosis. *Veterinary Journal* vol. 193, n° 1, p. 168-173. [<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.10.001>]
- NARANJO, C., FONDEVILA, D., LEIVA, M., *et al.* (2010) Detection of *Leishmania* spp. and associated inflammation in ocular-associated smooth and striated muscles in dogs with

- patent leishmaniosis. *Veterinary Ophthalmology* vol. 13, n° 3, p. 139-143. [https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2010.00768.x]
- NARANJO, C., FONDEVILA, D., LEIVA, M., *et al.* (2005) Characterization of lacrimal gland lesions and possible pathogenic mechanisms of keratoconjunctivitis sicca in dogs with leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* vol. 133, n° 1, p. 37-47. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.05.017]
- NICOLATO, R. de C., ABREU, R.T. de, ROATT, B.M., *et al.* (2013) Clinical Forms of Canine Visceral Leishmaniasis in Naturally Leishmania infantum–Infected Dogs and Related Myelogram and Hemogram Changes. *PloS One* vol. 8, n° 12, p. e82947. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082947]
- NOLI, C., AUXILIA, S.T. (2005) Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Veterinary Dermatology* vol. 16, n° 4, p. 213-232. [https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2005.00460.x]
- NOLI, C., SARIDOMICHELAKIS, M.N. (2014) An update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniosis caused by Leishmania infantum (syn. L. chagasi). *Veterinary Journal* vol. 202, n° 3, p. 425-435. [https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.09.002]
- OLIVA, G., DVM, X.R., CROTTI, A., *et al.* (2010) Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 236, n° 11, p. 1192-1198. [https://doi.org/10.2460/javma.236.11.1192]
- OLIVA, G., GRADONI, L., CIARAMELLA, P., *et al.* (1995) Activity of liposomal amphotericin B (AmBisome) in dogs naturally infected with Leishmania infantum. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* vol. 36, n° 6, p. 1013-1019. [https://doi.org/10.1093/jac/36.6.1013]
- OLIVA, G., SCALONE, A., FOGLIA MANZILLO, V., *et al.* (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* vol. 44, n° 4, p. 1318-1322. [https://doi.org/10.1128/JCM.44.4.1318-1322.2006]
- OLIVEIRA, C.S., RATZLAFF, F.R., PÖTTER, L., *et al.* (2019) Clinical and Pathological Aspects of Canine Cutaneous Leishmaniasis: A Meta-analysis. *Acta Parasitologica* vol. 64, n° 4, p. 916-922. [https://doi.org/10.2478/s11686-019-00063-7]
- ORTEGA, V., RADAIC, A., DE JESUS, M.B., *et al.* (2022) Improved efficacy of meglumine antimoniate incorporated in anionic liposomes against Leishmania infantum infecting canine macrophages. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* vol. 74, n° 6, p. 896-904. [https://doi.org/10.1093/jpp/rgab081]
- OTRANTO, D., PARADIES, P., LIA, R.P., *et al.* (2007) Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/50% permethrin for the prevention of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area. *Veterinary Parasitology* vol. 144, n° 3-4, p. 270-278. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.09.012]
- PALATNIK-DE-SOUSA, C.B., BARBOSA, A. de F., OLIVEIRA, S.M., *et al.* (2008) FML vaccine against canine visceral leishmaniasis: from second-generation to synthetic vaccine. *Expert Review of Vaccines* vol. 7, n° 6, p. 833-851. [https://doi.org/10.1586/14760584.7.6.833]
- PALTRINIERI, S., GRADONI, L., ROURA, X., *et al.* (2016) Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Veterinary Clinical Pathology* vol. 45, n° 4, p. 552-578. [https://doi.org/10.1111/vcp.12413]
- PALTRINIERI, S., SOLANO-GALLEGO, L., FONDATI, A., *et al.* (2010) Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 236, n° 11, p. 1184-1191. [https://doi.org/10.2460/javma.236.11.1184]
- PAPADOGIANNAKIS, E.I., KOUTINAS, A.F., SARIDOMICHELAKIS, M.N., *et al.* (2005) Cellular immunophenotyping of exfoliative dermatitis in canine leishmaniosis (Leishmania infantum). *Veterinary Immunology and Immunopathology* vol. 104, n° 3-4, p. 227-237. [https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.12.001]

- PARPAGLIA, M.L.P., VERCELLI, A., COCCO, R., *et al.* (2007) Nodular lesions of the tongue in canine leishmaniosis. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine* vol. 54, n° 8, p. 414-417. [<https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2007.00994.x>]
- PEÑA, M.T., NARANJO, C., KLAUSS, G., *et al.* (2008) Histopathological features of ocular leishmaniosis in the dog. *Journal of Comparative Pathology* vol. 138, n° 1, p. 32-39. [<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.09.004>]
- PENNISI, M.G., REALE, S., GIUDICE, S.L., *et al.* (2005) Real-Time PCR in Dogs Treated for Leishmaniasis with Allopurinol. *Veterinary Research Communications* vol. 29, n° 2, p. 301-303. [<https://doi.org/10.1007/s11259-005-0067-4>]
- PEREIRA, M.A., SANTOS, R., OLIVEIRA, R., *et al.* (2020) Prognostic Factors and Life Expectancy in Canine Leishmaniosis. *Veterinary Sciences* vol. 7, n° 3, p. 128. [<https://doi.org/10.3390/vetsci7030128>]
- PETANIDES, T.A., KOUTINAS, A.F., MYLONAKIS, M.E., *et al.* (2008) Factors associated with the occurrence of epistaxis in natural canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 22, n° 4, p. 866-872. [<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0129.x>]
- PINEDA, C., AGUILERA-TEJERO, E., MORALES, M.C., *et al.* (2017) Treatment of canine leishmaniasis with marbofloxacin in dogs with renal disease. *PloS One* vol. 12, n° 10, p. e0185981. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185981>]
- PLEVRAKI, K., KOUTINAS, A. f., KALDRYMIDOU, H., *et al.* (2006) Effects of Allopurinol Treatment on the Progression of Chronic Nephritis in Canine Leishmaniosis (*Leishmania infantum*). *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 20, n° 2, p. 228-233. [<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02850.x>]
- POLI, A., ABRAMO, F., MANCIANTI, F., *et al.* (1991) Renal involvement in canine leishmaniasis. A light-microscopic, immunohistochemical and electron-microscopic study. *Nephron* vol. 57, n° 4, p. 444-452. [<https://doi.org/10.1159/000186348>]
- PROVERBIO, D., SPADA, E., DE GIORGI, G.B., *et al.* (2016) Proteinuria reduction after treatment with miltefosine and allopurinol in dogs naturally infected with leishmaniasis. *Veterinary World* vol. 9, n° 8, p. 904-908. [<https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.904-908>]
- PUGLIESE, M., GAGLIO, G., PASSANTINO, A., *et al.* (2021) Natural Products against Sand Fly Vectors of Leishmaniosis: A Systematic Review. *Veterinary Sciences* vol. 8, n° 8, p. 150. [<https://doi.org/10.3390/vetsci8080150>]
- RALLIS, T., DAY, M.J., SARIDOMICHELAKIS, M.N., *et al.* (2005) Chronic hepatitis associated with canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*): a clinicopathological study of 26 cases. *Journal of Comparative Pathology* vol. 132, n° 2-3, p. 145-152. [<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2004.09.004>]
- REGUERA, R.M., MORÁN, M., PÉREZ-PERTEJO, Y., *et al.* (2016) Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. *Veterinary Parasitology* vol. 227, p. 98-114. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.07.011>]
- REIS, A.B., MARTINS-FILHO, O.A., TEIXEIRA-CARVALHO, A., *et al.* (2006) Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. *Research in Veterinary Science* vol. 81, n° 1, p. 68-75. [<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2005.09.011>]
- RIBEIRO, R.R., DA SILVA, S.M., FULGÊNCIO, G. de O., *et al.* (2013) Relationship between clinical and pathological signs and severity of canine leishmaniasis. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria* vol. 22, n° 3, p. 373-378. [<https://doi.org/10.1590/S1984-29612013000300009>]
- RIBEIRO, R.R., MICHALICK, M.S.M., DA SILVA, M.E., *et al.* (2018) Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. *BioMed Research International* vol. 2018, p. 3296893. [<https://doi.org/10.1155/2018/3296893>]
- RITTIG, M.G., BOGDAN, C. (2000) *Leishmania*-host-cell interaction: complexities and alternative views. *Parasitology Today* vol. 16, n° 7, p. 292-297. [[https://doi.org/10.1016/s0169-4758\(00\)01692-6](https://doi.org/10.1016/s0169-4758(00)01692-6)]
- ROBERTS, C.W., MCLEOD, R., RICE, D.W., *et al.* (2003) Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and trypanosomatid parasitic protozoa.

- Molecular and Biochemical Parasitology* vol. 126, n° 2, p. 129-142. [https://doi.org/10.1016/s0166-6851(02)00280-3]
- ROLÃO, N., MARTINS, M.J., JOÃO, A., *et al.* (2005) Equine infection with *Leishmania* in Portugal. *Parasite* vol. 12, n° 2, p. 183-186. [https://doi.org/10.1051/parasite/2005122183]
- ROMBOLÀ, P., BARLOZZARI, G., CARVELLI, A., *et al.* (2021) Seroprevalence and risk factors associated with exposure to *Leishmania infantum* in dogs, in an endemic Mediterranean region. *PLoS One* vol. 16, n° 1, p. e0244923. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244923]
- ROSA, F.A., LEITE, J.H. a. C., BRAGA, E.T., *et al.* (2014) Cardiac lesions in 30 dogs naturally infected with *Leishmania infantum chagasi*. *Veterinary Pathology* vol. 51, n° 3, p. 603-606. [https://doi.org/10.1177/0300985813493914]
- ROUGIER, S., HASSEINE, L., DELAUNAY, P., *et al.* (2012) One-year clinical and parasitological follow-up of dogs treated with marbofloxacin for canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* vol. 186, n° 3-4, p. 245-253. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.016]
- ROUGIER, S., VOULDOUKIS, I., FOURNEL, S., *et al.* (2008) Efficacy of different treatment regimens of marbofloxacin in canine visceral leishmaniosis: a pilot study. *Veterinary Parasitology* vol. 153, n° 3-4, p. 244-254. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.041]
- ROURA, X., FONDATI, A., LUBAS, G., *et al.* (2013) Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: a working group report. *Veterinary Journal* vol. 198, n° 1, p. 43-47. [https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.04.001]
- RUIZ, G., LALOY, E., BENCHEKROUN, G. (2015) Chronic gastritis and enterocolitis associated with *Leishmania* infection in an 18-month-old, intact female dog. *The Veterinary Quarterly* vol. 35, n° 4, p. 236-239. [https://doi.org/10.1080/01652176.2015.1050529]
- SABATÉ, D., LLINÁS, J., HOMEDES, J., *et al.* (2014) A single-centre, open-label, controlled, randomized clinical trial to assess the preventive efficacy of a domperidone-based treatment programme against clinical canine leishmaniasis in a high prevalence area. *Preventive Veterinary Medicine* vol. 115, n° 1-2, p. 56-63. [https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.03.010]
- SANCHEZ-ROBERT, E., ALTET, L., SANCHEZ, A., *et al.* (2005) Polymorphism of *Slc11a1* (*Nramp1*) Gene and Canine Leishmaniasis in a Case-Control Study. *Journal of Heredity* vol. 96, n° 7, p. 755-758. [https://doi.org/10.1093/jhered/esi111]
- SANCHEZ-ROBERT, E., ALTET, L., UTZET-SADURNI, M., *et al.* (2008) *Slc11a1* (formerly *Nramp1*) and susceptibility to canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Research* vol. 39, n° 3, p. 36. [https://doi.org/10.1051/vetres:2008013]
- SARIDOMICHELAKIS, M.N. (2009) Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: epidemiologic and diagnostic implications. *Veterinary Dermatology* vol. 20, n° 5-6, p. 471-489. [https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2009.00823.x]
- SARIDOMICHELAKIS, M.N., KOUTINAS, A.F., OLIVRY, T., *et al.* (2007) Regional parasite density in the skin of dogs with symptomatic canine leishmaniosis. *Veterinary Dermatology* vol. 18, n° 4, p. 227-233. [https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2007.00597.x]
- SARIDOMICHELAKIS, M.N., MYLONAKIS, M.E., LEONTIDES, L.S., *et al.* (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* vol. 73, n° 1, p. 82-86. [https://doi.org/10.4269/ajtmh.2005.73.82]
- SEGARRA, S., MIRO, G., MONTOYA, A., *et al.* (2017) Randomized, allopurinol-controlled trial of the effects of dietary nucleotides and active hexose correlated compound in the treatment of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* vol. 239, p. 50-56. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.04.014]
- SHAW, S.E., LANGTON, D.A., HILLMAN, T.J. (2009) Canine leishmaniosis in the United Kingdom: A zoonotic disease waiting for a vector? *Veterinary Parasitology* vol. 163, n° 4, p. 281-285. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.03.025]
- SIDERIS, V., PAPADOPOULOU, G., DOTSIKA, E., *et al.* (1999) Asymptomatic canine leishmaniasis in Greater Athens area, Greece. *European Journal of Epidemiology* vol. 15, n° 3, p. 271-276. [https://doi.org/10.1023/a:1007526401175]

- SILVA, F.L., RODRIGUES, A.A.M., REGO, I.O.P., *et al.* (2008) Genital lesions and distribution of amastigotes in bitches naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Veterinary Parasitology* vol. 151, n° 1, p. 86-90. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.09.032>]
- SILVA, J.F., GUIMARÃES, L.B., RIBEIRO, L.R., *et al.* (2014) Acute oesophageal necrosis concurrent with *Leishmania chagasi* infection in a dog. *Journal of Comparative Pathology* vol. 150, n° 2-3, p. 148-150. [<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2013.08.003>]
- SLAPPENDEL, R.J. (1988) Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in The Netherlands. *The Veterinary Quarterly* vol. 10, n° 1, p. 1-16. [<https://doi.org/10.1080/01652176.1988.9694140>]
- SLAPPENDEL, R.J., TESKE, E. (1997) The effect of intravenous or subcutaneous administration of meglumine antimonate (Glucantime) in dogs with leishmaniasis. A randomized clinical trial. *The Veterinary Quarterly* vol. 19, n° 1, p. 10-13. [<https://doi.org/10.1080/01652176.1997.9694729>]
- SOLANO-GALLEGO, L., CARDOSO, L., PENNISI, M.G., *et al.* (2017) Diagnostic Challenges in the Era of Canine *Leishmania infantum* Vaccines. *Trends in Parasitology* vol. 33, n° 9, p. 706-717. [<https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.06.004>]
- SOLANO-GALLEGO, L., KOUTINAS, A., MIRÓ, G., *et al.* (2009) Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Veterinary Parasitology* vol. 165, n° 1, p. 1-18. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.05.022>]
- SOLANO-GALLEGO, L., LLULL, J., RAMOS, G., *et al.* (2000) The Ibiza hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Veterinary Parasitology* vol. 90, n° 1, p. 37-45. [[https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00223-5)]
- SOLANO-GALLEGO, L., MIRÓ, G., KOUTINAS, A., *et al.* (2011) LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. *Parasites & Vectors* vol. 4, p. 86. [<https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-86>]
- SOLANO-GALLEGO, L., MORELL, P., ARBOIX, M., *et al.* (2001a) Prevalence of *Leishmania infantum* Infection in Dogs Living in an Area of Canine Leishmaniasis Endemicity Using PCR on Several Tissues and Serology. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 39, n° 2, p. 560-563. [<https://doi.org/10.1128/JCM.39.2.560-563.2001>]
- SOLANO-GALLEGO, L., RIERA, C., ROURA, X., *et al.* (2001b) *Leishmania infantum*-specific IgG, IgG1 and IgG2 antibody responses in healthy and ill dogs from endemic areas: Evolution in the course of infection and after treatment. *Veterinary Parasitology* vol. 96, n° 4, p. 265-276. [[https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00446-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00446-5)]
- SOLANO-GALLEGO, L., VILLANUEVA-SAZ, S., CARBONELL, M., *et al.* (2014) Serological diagnosis of canine leishmaniasis: comparison of three commercial ELISA tests (Leiscan®, ID Screen® and *Leishmania* 96®), a rapid test (Speed Leish K®) and an in-house IFAT. *Parasites & Vectors* vol. 7, p. 111. [<https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-111>]
- SYMMERS, W. (1960) Leishmaniasis acquired by contagion: a case of marital infection in Britain. *The Lancet* vol. 275, n° 7116, p. 127-132. [[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(60\)90052-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(60)90052-0)]
- TOEPP, A.J., PETERSEN, C.A. (2020) The balancing act: Immunology of leishmaniasis. *Research in Veterinary Science* vol. 130, p. 19-25. [<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.02.004>]
- TORRECILHA, R.B.P., UTSUNOMIYA, Y.T., BOSCO, A.M., *et al.* (2016) Correlations between peripheral parasite load and common clinical and laboratory alterations in dogs with visceral leishmaniasis. *Preventive Veterinary Medicine* vol. 132, p. 83-87. [<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.08.006>]
- TORRES, M., BARDAGÍ, M., ROURA, X., *et al.* (2011) Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniasis (clinical stage II) and treated with meglumine antimonate and allopurinol. *Veterinary Journal* vol. 188, n° 3, p. 346-351. [<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.05.025>]
- VAMVAKIDIS, C.D., KOUTINAS, A.F., KANAKOUDIS, G., *et al.* (2000) Masticatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *The Veterinary Record* vol. 146, n° 24, p. 698-703. [<https://doi.org/10.1136/vr.146.24.698>]
- VIÑUELAS, J., GARCÍA-ALONSO, M., FERRANDO, L., *et al.* (2001) Meningeal leishmaniasis induced by *Leishmania infantum* in naturally infected dogs. *Veterinary Parasitology* vol. 101, n° 1, p. 23-27. [[https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00413-7](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00413-7)]

- VOULDOUKIS, I., ROUGIER, S., DUGAS, B., *et al.* (2006) Canine visceral leishmaniasis: comparison of in vitro leishmanicidal activity of marbofloxacin, meglumine antimoniate and sodium stibogluconate. *Veterinary Parasitology* vol. 135, n° 2, p. 137-146. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.09.003>]
- YASUR-LANDAU, D., JAFFE, C.L., DAVID, L., *et al.* (2018) Resistance of *Leishmania infantum* to allopurinol is associated with chromosome and gene copy number variations including decrease in the S-adenosylmethionine synthetase (METK) gene copy number. *International Journal for Parasitology. Drugs and Drug Resistance* vol. 8, n° 3, p. 403-410. [<https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2018.08.002>]
- YASUR-LANDAU, D., JAFFE, C.L., DAVID, L., *et al.* (2016) Allopurinol Resistance in *Leishmania infantum* from Dogs with Disease Relapse. *PLoS Neglected Tropical Diseases* vol. 10, n° 1, p. e0004341. [<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004341>]
- ZAFFARONI, E., RUBAUDO, L., LANFRANCHI, P., *et al.* (1999) Epidemiological patterns of canine leishmaniasis [correction of leishmaniosis] in Western Liguria (Italy). *Veterinary Parasitology* vol. 81, n° 1, p. 11-19. [[https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(98\)00237-4](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(98)00237-4)]
- ZIVICNJAK, T., MARTINKOVIĆ, F., MARINCULIĆ, A., *et al.* (2005) A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniosis among apparently healthy dogs in Croatia. *Veterinary Parasitology* vol. 131, n° 1-2, p. 35-43. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.036>]



# Annexe 1 : Données relatives aux différents protocoles de traitements

---

Protocole de traitement à T0	Protocole de traitement à T1	Stade à T0	Stade à T1	Stade à T2
1	1	2	2	1
2	1	2	2	2
1	2	2	2	
1	2	2	2	2
1	1	2	3	2
2	3	2	2	2
1	2	4	3	4
1		2	2	1
2	2	2	2	1
1	5	4	3	1
1	2	2	2	
1	2	2	2	1
1	2	2	2	1
1	2	2	2	
1	1	2	2	2
1	1	2	1	
1	2	2	2	1
1	1	3	1	
1	2	4	4	
1	2	2	2	2
2	3	4	1	1
1	2	3	3	
1	1	3	2	1
2	2	2	2	
1	2	4	1	1
1	2	2	2	2
1	1	2	2	2
1	2	2	2	2
1	2	4	2	3
3	2	2	2	
2	2	2	2	1
1	1	4	2	2
1	1	3	2	
5	5	2	2	2
6	1	3	3	
1	1	3	2	3

Concernant les différents protocoles de traitements :

1 = Allopurinol + antimoniate de méglumine

2 = Allopurinol seul

3 = Pas de traitement

4 = Miltéfosine seule

5 = Miltéfosine + allopurinol

6 = Antimoniate de méglumine seule



# ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DES CAS DE LEISHMANIOSE CHEZ LE CHIEN AU CHUV-AC DE L'ENVA ENTRE 2010 ET 2023 : ÉPIDÉMIOLOGIE, PRÉSENTATION CLINIQUE, TRAITEMENT ET FACTEURS ASSOCIÉS À LA SURVIE

---

**AUTEUR :** Nicolas AKIR

## **RÉSUMÉ :**

La leishmaniose canine est une maladie parasitaire vectorielle d'importance croissante pour les vétérinaires en France. C'est une affection extrêmement protéiforme dont la complication la plus grave est une insuffisance rénale potentiellement mortelle.

Différents auteurs se sont déjà intéressés à la description de séries de cas de leishmaniose mais l'immense majorité de ces publications portait sur des cas vivant en région endémique et qui étaient donc soumis à une pression de réinfection constante. Notre étude s'intéresse à la description la plus précise possible d'une série de cas de leishmaniose diagnostiqués au CHUV-AC de l'ENVA, en région non endémique.

Après une synthèse bibliographique sur les données actuelles des connaissances sur la leishmaniose (aspects épidémiologiques, cliniques, thérapeutiques et pronostiques), nous avons effectué une étude rétrospective descriptive sur 51 chiens dont le diagnostic de leishmaniose a eu lieu au CHUV-AC de l'ENVA. À la suite de cela, nous avons réalisé une étude de survie sur 42 chiens pour lesquels les données médicales le permettaient et nous avons analysé l'effet sur la survie de facteurs pronostiques potentiels. Cette partie de l'étude avait pour but d'évaluer la médiane de survie, ainsi que les potentielles rechutes dans les 6 mois suivant la mise en place du traitement.

Concernant la partie descriptive, notre étude était dans l'ensemble conforme aux données de la littérature. Les principales anomalies cliniques rencontrées étaient des manifestations systémiques (82,4 %), une atteinte dermatologique (76,5 %) et une atteinte ophtalmologique (39,2 %). Les principales anomalies hémato-biochimiques rencontrées étaient une hypoalbuminémie (91,9 %), une protéinurie (76,5 %) et une anémie (75,7 %). Notre analyse de survie n'a pas été concluante en raison du faible effectif de l'échantillon, mais certaines tendances, identifiées dans la littérature ont été mises en évidence.

**MOTS CLÉS :** CHIEN / ÉTUDE DESCRIPTIVE / ÉTUDE RÉTROSPECTIVE / LEISHMANIOSE / TRAITEMENT

## **JURY :**

Président : Pr Radu BLAGA

Directrice de thèse : Dr Ghita BENCHEKROUN

Examinatrice : Dr Noëlle COCHET-FAIVRE

# A RETROSPECTIVE STUDY OF LEISHMANIASIS IN DOGS AT THE CHUVA-AC OF THE ALFORT NATIONAL VETERINARY SCHOOL BETWEEN 2010 AND 2023: EPIDEMIOLOGY, DESCRIPTION, TREATMENT AND SURVIVAL-ASSOCIATED FACTORS

---

**AUTHOR:** Nicolas AKIR

## **SUMMARY:**

Canine leishmaniasis is a vector-borne parasitic disease of increasing concern among veterinarians in France. It is an extremely polymorphic condition, with its most severe complication being potentially lethal renal failure. While several authors have previously described case series of leishmaniasis, most of these publications focused on cases occurring in endemic regions, thus subjected to constant reinfection pressure. Our study aims to provide the most precise description possible of a series of canine leishmaniasis cases diagnosed at the CHUV-AC of the Alfort National Veterinary School in a non-endemic region.

Following a bibliographical synthesis of current knowledge on leishmaniasis (epidemiological, clinical, therapeutic, and prognostic aspects), we conducted a retrospective descriptive study on 51 dogs diagnosed with leishmaniasis at the CHUV-AC of ENVA. Subsequently, we performed a survival analysis on 42 dogs for which medical data permitted, examining potential prognostic factors' effects on survival. This aspect of the study aimed to evaluate median survival, as well as potential relapses within 6 months following treatment initiation.

Regarding the descriptive segment, our study broadly aligned with existing literature data. The primary clinical abnormalities encountered included general deterioration (82.4 %), dermatological involvement (76.5 %), and ophthalmological manifestations (39.2 %). The main haematological and biochemical abnormalities observed were hypoalbuminemia (91.9 %), proteinuria (76.5 %), and anaemia (75.7 %). Our survival analysis was inconclusive due to the small sample size, yet certain trends identified in the literature were highlighted.

**KEYWORDS:** DESCRIPTIVE STUDY / DOG / LEISHMANIASIS / RETROSPECTIVE STUDY / TREATMENT

## **JURY:**

Chairperson: Pr Radu BLAGA

Thesis Director: Dr Ghita BENCHEKROUN

Reviewer: Dr Noëlle COCHET FAIVRE