

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires

Département des Sciences Vétérinaires

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Epidémiologie appliquée à la santé animale

**LA LEISHMANIOSE FELINE DANS LA REGION
D'ALGER**

Par

Mustapha DJOUDI

Devant le jury composé de :

M.LAFRI	Professeur	U.S.D. Blida	Président
F.BACHI	Professeur	IPA Alger	Examineur
M.OUMOUNA	Maitre de conférences	U.S.D. Blida	Examineur
R. KAIDI	Professeur	U.S.D. Blida	Promoteur
R.TRIKI-YAMANI	Maitre de Conférences	U.S.D. Blida	Co-promoteur

Blida, Mars 2011

Résumé

La leishmaniose féline (FL) est une caractéristique assez rare, la maladie clinique a été décrite chez le chat depuis les années quatre vingt dix, la plupart des rapports mettent l'accent sur les chats infectés vivant en zone d'endémie. Quand un typage de l'agent étiologique a été effectué *L.infantum* a été identifiée dans tous les cas signalés [1].

Une étude ponctuelle a été réalisée au niveau de la fourrière (HURBAL) d'Alger durant la période s'étalant de Juillet 2009 à Mai 2010.

Des prélèvements de sang ont été réalisés sur un échantillon de cinquante (50) chats et cinquante (50) chiens errants (ces derniers étant réputés réservoirs principaux de la maladie), ces échantillons ont été testés par trois (3) méthodes (FLG, Witness et IFI) afin de déterminer les prévalences de la Leishmaniose chez chacune des espèces.

L'objectif de ce travail a été de comparer les résultats obtenus chez ces deux(2) espèces soumises au même risque infectieux puisqu'il s'agit d'animaux errants recueillis dans une même région à savoir la région d'Alger qui regroupe 57 communes.

Les résultats récoltés ont été traités par le logiciel Excell 2007 et ont montré des prévalences de 40% et 36% chez le chien et le chat respectivement.

Dans un second temps des études statistiques ont été menées afin de mieux cerner la pathologie chez le chat, espèce réputée réservoir accessoire pour beaucoup d'études internationales mais dont nous ignorons pratiquement tout en Algérie.

Le calcul des valeurs prédictive positive (VPP) et prédictive négative (VPN) a donné le résultat suivant :

$$VPP= 83,33\% \quad ; \quad VPN= 94,11\%$$

Les résultats obtenus grâce au logiciel Statistica 7.0 en comparant des variables telles que l'âge, les lésions, la race et le sexe n'ont montré aucune différence significative ($P > 0.05$) en dehors de celles retrouvées en comparant les lésions et le sexe chez les 2 espèces ($P \leq 0.05$) .

Mots clés : Leishmaniose – Chat –Prévalence -Witness

ملخص

-ليشمانايوز la leishmaniose السنوريات هي ميزة نادرة المرض العيادي وصف عند القط منذ التسعينات، أغلبية النقاير تضع التتوية علي القطط المصابة التي تعيش في منطقة تواجد المرض L infantum تحقق منها في جميع الحالات المشار إليها (1)

- دراسة دقيقة أجريت على مستوى محجز (HURBAL) الجزائر العاصمة خلال المرحلة الممتدة من جويلية 2009 إلى ماي 2010

سحب الدم أجري على عينة تتكون من (50) قط و (50) كلب متشرد (الأواخر مشهورون بأنهم الخزان الأساسي للمرض).

العينات أختبرت بثلاث (3) طرق (IFI و FLG witness) من أجل تحديد نسبة الإصابة الليشمانايوز عند كل من الصنفين. الهدف من هذا العمل هو مقارنة النتائج المتحصل عليها عند الصنفين الخاضعين لنفس الخطر المعدي بما أنه يتعلق بحيوانات متشردة ألتقطت في نفس المنطقة، للعلم منطقة الجزائر العاصمة و التي تجمع 57 بلدية.

النتائج المتحصل عليها عولجت بواسطة برنامج إكسيل 2007 excell

و اللذين أظهروا نسبة الإصابة ب 40 % و 36 % عند الكلب و القط علي التوالي .

-في وقت ثاني تم القيام بدراسات إحصائية من أجل إحاطة أحسن بالمرض عند القط صنف الشهر بأنهم خزان تابع للعديد من الدراسات الدولية لكن تطبيقيا لا نعرف عنه كل شيء في الجزائر .

-النتائج المتحصل عليها بفضل برنامج statistica 7.0 تحليل متغير الطراز و مقارنة المتغيرات مثل السن

الأضرار الفصيلة الجنس لم يبينوا أي إختلاف معتبر ($p > 0.05$)

الكلمات المفتاح . ليشمانايوز – قط – نسبة الإصابة -witness

REMERCIEMENTS

Je remercie DIEU le tout puissant de m'avoir donné la santé et m'avoir permis d'arriver au jour d'aujourd'hui.

Mes remerciements vont à :

Monsieur LAFRI M Professeur à l'université SAAD DAHLAB de Blida qui malgré ses occupations a bien voulu présider ce jury.

Madame BACHI F Professeur à l'institut Pasteur d'Alger qui nous a fait l'honneur de bien vouloir apporter ses compétences à notre jury.

Monsieur OUMOUNA. M Maitre de Conférences à l'université SAAD DAHLAB de Blida qui nous a fait le grand honneur d'accepter de juger ce travail.

Professeur KAIDI .R, mon promoteur pour ce travail pour lequel il n'a cessé de m'épauler et de me prodiguer conseils et encouragements, merci Monsieur

Monsieur TRIKI-YAMANI R -R pour tous les efforts qu'il a bien voulu fournir pour la réalisation de ce travail et les conseils judicieux qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Monsieur BRAHIM RAHMANI M. Chargé de cours à l'université SAAD DAHLAB de Blida pour son aide lors des analyses statistiques.

Mademoiselle OUAKLI Nadia pour sa présence, sa disponibilité, son soutien et son aide sur le terrain un grand merci.

Madame SAIDI Messaouda, responsable de la fourrière HURBAL pour son aide et sa disponibilité, encore merci.

A Hbiba, pour son aide que je ne saurais oublier.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, particulièrement :

FERROUKHI A. Chargé de cours à l'université SAAD DAHLAB de Blida

GUEDIOURA M .Chargé de cours à l'université SAAD DAHLAB de Blida

BENDALI F .Spécialiste en Epidémiologie animale, Institut Technique de l'Elevage, France, pour ses conseils tout au long de notre formation en épidémiologie.

FEROUK M Chargé de cours à l'université SAAD DAHLAB de Blida

BERBAR A Chef de Département Vétérinaire de Blida

MEGATELI S. Vice doyen chargé de la post-graduation

GHARBI S Maitre de Conférences à l'université SAAD DAHLAB de Blida

RAHAL K. Professeur à l'université SAAD DAHLAB de Blida

Sincères remerciements

Dédicaces

Au feu mon père et ma mère qui j'en suis sûr auraient été très fiers de leur fils, vous serez toujours dans mes pensées et dans mon cœur, puisse Dieu vous accueillir en son vaste paradis.

A ma tante et mon oncle sans lesquels rien n'aurait pu être possible, Dieu vous garde

A ma petite famille Fatiha, Oussama, Adel et Mehdi « chinoui ».

A toute la famille grands et petits ainsi qu'à la belle famille.

A toutes celles et ceux que je connais et qui m'ont toujours soutenu.

SOMMAIRE

Résumé

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : La leishmaniose

1-Généralités 3

1-1 -Définition 3

1-2-Importance 3

1-2-1-Médicale 3

1-2-2-Economique et Sociale 3

1-2-Réservoirs 4

2-Etude du parasite 4

2-1-Taxonomie 5

2-2- Morphologie 5

2-3-Biologie 6

2-4-Pouvoir pathogène 9

2-4-1-Antigènes majeurs du parasite 9

2-4-2-Inoculation de souches félines à des animaux de laboratoire 10

2-4-3-Réponse immunitaire 10

Chapitre 2 : Epidémiologie 12

2-1- Epidémiologie Descriptive 12

2-2- Epidémiologie Analytique 12

2-2-1-Espèces réservoirs 12

2-2-2-Transmission	13
2-2-3-Facteurs favorisants	13
2-3-Pathogénie	13
2-4-Symptômes	14
2-5-Prévalence et Incidence	16
2-5-1-Méthodes parasitologiques	16
2-5-2-Méthodes sérologiques	17
2-5-3-Prévalence et incidence cliniques	18
2-6-Répartition géographique	19
2-6-1-Variations saisonnières	20
2-6-2-Réservoir félin	21
2-6-2-1-Réceptivité du chat	21
2-6-2-2-Facteurs intrinsèques	22
- Sexe	22
- Age	22
- Race	23
2-6-2-3-Facteurs extrinsèques	23
- Mode de vie	23
- Environnement	23
- Infection par des rétrovirus	23
- Affections intercurrentes	24
- Contamination des phlébotomes à partir du chat	24
2-6-2-4-Sensibilité du chat	26
Chapitre 3 : Etude clinique	31
3-1-Symptomatologie et traitement chez l'homme	31
3-1-1-Symptômes	31
3-1-2-Diagnostic de confirmation	32
3-1-3-Traitement	32
3-2-Symptômes et lésions chez le chien	32

3-2-1-Symptômes généraux	33
3-2-2-Lésions cutanéomuqueuses	33
3-2-3-Lésions oculaires	35
3-2-4-Symptômes intéressant l'appareil urinaire	35
3-2-5-Symptômes digestifs	35
3-2-6-Lésions ostéoarticulaires	35
3-2-7-Modifications sanguines	35
3-2-8--Lésions atypiques	36
3-3-Symptômes chez le chat	36
3-3-1-Lésions cutanées	37
3-3-2-Signes oculaires	39
Chapitre 4 : Diagnostic	41
4-1-Diagnostic biologique	41
4-1-1-Méthodes non spécifiques	41
4-1-2-Méthodes spécifiques	42
4-2-Chez le chat	48
4-2-1-Diagnostic épidémio-clinique	48
4-2-2-Diagnostic différentiel	48
4-2-3-Diagnostic de laboratoire	50
4-2-4-Examens directs	51
Chapitre 5 : Immunologie	57
5-1- Rappels	57
5-1-1-Les cellules de l'immunité	57
5-2-Les molécules de l'immunité	59
5-3-Les réactions immunitaires lors de leishmaniose : modèle général	60
5-3-1-Immunité innée	60
5-3-2-Immunité acquise	62

5-4-Réactions immunitaires du chien infecté par <i>Leishmania infantum</i>	64
5-5-Rôle de la salive du vecteur	69
Chapitre 6 : Traitement et évolution	71
6-1- Traitement de la leishmaniose canine	71
6-1-1-Décision thérapeutique	71
6-1-2-Thérapeutique spécifique	72
6-2-Chez le chat	74
6-2-1-Données expérimentales	74
6-3- Données thérapeutiques de la leishmaniose canine	74
6-3-1-Molécules actives sur les leishmanies	74
6-4-Suivi des cas de leishmaniose féline	77
6-4-1- Chats non traités	77
6-4-2- Chats traités contre la leishmaniose	77
Conclusion	79
PARTIE EXPERIMENTALE	
I-Matériel et Méthodes	80
1-pré enquête	80
2-examen clinique	81
3-zone d'étude	81
4-population cible	83
5-méthode d'échantillonnage	83
6-intervalle de confiance	84
7.-Récolte des prélèvements	86
8- Identification des prélèvements	86
9-Méthodes de laboratoire	86
9.1. Etude sérologique par le test FLG (Formol Leuco Gélification)	86

9.2. Etude sérologique par le test WITNESS Leishmania	87
9.3. Etude sérologique par le test d'immunofluorescence indirecte	89
II- Résultats	90
1-Résultats de la pré-enquête	90
2-Résultats de l'examen clinique	95
3-Analyse des prélèvements	103
4-Analyse statistique	112
DISCUSSION	115
CONCLUSION	122
RECOMMANDATIONS	123
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	125
APPENDICES	

LISTE DES TABLEAUX, FIGURES

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Répartition mondiale des zones d'endémie de la leishmaniose cutanée, cutanéomuqueuse et viscérale	3
Figure 1.2 : Morphologie des leishmanies	6
Figure 1.3 : Cycle évolutif des Leishmanies cutanées et viscérales	7
Figure 1.4 : Aspect général du phlébotome	7
Figure 2.1 Répartition mondiale de la leishmaniose	19
Figure 2.2 : Carte de répartition des cas de leishmaniose féline rapportés	20

Figure 3.1 : Cycle anthroponotique chez l'homme	31
Figure 3.2 : symptômes chez l'homme	31
Figure3.3 : Diagnostic parasitologique de confirmation	32
Figure 3.4 : Aspect général de chiens atteints de leishmaniose	33
Figure 3.5 : Ulcères cutanés	34
Figure 3.6 : Chancre d'inoculation, ulcère	37
Figure 4.1 : Electrophorèse des protéines sériques d'un chien leishmanien	42
Figure 4.2 : Technique IFI	45
Figure 4.3 : Principe du test IFI	46
Figure4.4 : Réaction IFI positive	55
Figure 4.5 : Réaction IFI négative	55
Figure 5.1:Représentation schématique des réponses immunitaires lors de leishmaniose canine	69
LISTE DES TABLEAUX	
Tableau 2.1: Symptômes observés lors de leishmaniose canine	15
Tableau 2.2: Leishmaniose féline-Méthodes parasitologiques	17
Tableau 2.3 : Leishmaniose féline : Méthodes sérologiques	18
Tableau 3.1 : <i>Evolution des lésions sur des chats infectés expérimentalement avec Leishmania braziliensis</i>	37
Tableau 3.2 : Nombre de cas observés en fonction des différents sites lésionnels	38
Tableau 3.3: Types lésionnels rencontrés lors de leishmaniose féline	38
Tableau 3.4 : Tableau récapitulatif des signes généraux rencontrés dans les cas de leishmaniose féline	40

Tableau 4.1 : Paramètres sanguins renseignés dans les cas publiés répertoriés	51
Tableau 5.1 : Propriétés de la salive du phlébotome	70
Tableau 6.1: Noms et protocoles d'utilisation des principales molécules utilisées dans le traitement de la leishmaniose canine	73
Tableau 6.2: Liste de molécules citées leishmanicides ou leishmaniostatiques	74
Tableau 6.3 : Molécules utilisées : Evolution chez les chats traités	78

PARTIE EXPERIMENTALE

LISTE DES FIGURES

Figure1 : Carte géographique Wilaya d'Alger	82
Figure2 :Sites immédiat de la fourrière (HURBAL)	83
Figure 3 : Méthode de calcul de l'intervalle de confiance	85
Figure 4 : Test FLG positif	87
Figure 5 : Mode opératoire de la technique du test Witness	88
Figure 6 : Expérience professionnelle des vétérinaires	91
Figure 7 : Fréquence de la leishmaniose selon les saisons	92
Figure 8 : Diagnostic de la pathologie	93
Figure 9 : Décision thérapeutique	94
Figure 10 : Lésions chiens	98
Figure 11 : Distribution des lésions chez les chats	101
Figure 12: Lésions chats	102
Figure 13 : Représentation des effectifs des chiens prélevés selon l'âge et le sexe	103
Figure 14 : Représentation des effectifs des chats prélevés selon l'âge et le sexe	104
Figure 15 : Cas positifs selon le sexe(chats)	105
Figure 16 : Nombre de cas positifs selon le sexe (chiens)	106

Figure 17 : Pourcentage des cas positifs selon le sexe (chiens)	106
Figure 18 : Nombre des cas positifs selon sexe et âge (chats)	107
Figure 19 : Pourcentage des cas positifs selon sexe et âge (chats)	107
Figure 20 : Nombre des cas positifs selon sexe et âge (chiens)	108
Figure 21 : Pourcentage des cas positifs selon sexe et âge (chiens)	108
Figure 22 : Répartition des lésions en fonction du sexe (chiens)	109
Figure 23 : Répartition des lésions en fonction du sexe (chats)	110
Figure 24 : Répartition des lésions en fonction de la race (chiens)	111

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Nombre de sujets nécessaire pour l'estimation d'une prévalence en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée	84
Tableau 2 : Signes cliniques des chiens positifs aux tests	96
Tableau 3 : Classement des lésions des chiens positifs	97
Tableau 4 : Signes cliniques des chats positifs aux tests	99
Tableau 5 : Classement des lésions des chats positifs	100
Tableau 6 : Pourcentage des lésions par rapport à l'effectif des chats prélevés	101
Tableau 7 : Effectifs des chiens prélevés selon âge et sexe	103
Tableau 8 : Effectifs des chats prélevés selon âge et sexe	104
Tableau 9 : Tests FLG et Witness (chats)	105
Tableau 10 : Tests FLG et Witness (chiens)	106
Tableau 11 : Cas positifs selon sexe et âge (Chats)	107
Tableau 12 : Cas positifs selon sexe et âge (Chiens)	108
Tableau 13 : Répartition des lésions selon cas positifs (chiens)	109

Tableau 14 : Répartition des lésions selon cas positifs (chats)	110
Tableau 15 : Distribution des lésions selon race (chiens)	111
Tableau 16 : Répartition des paramètres race, sexe, âge et lésions (chats)	112
Tableau 17 : Cas positifs selon le sexe(chats)	113
Tableau 18 : Répartition des paramètres race, sexe, âge et lésions (chiens)	113
Tableau 19 : Cas positifs selon les lésions (chats)	114

INTRODUCTION

La leishmaniose affecte de nombreuses espèces de mammifères dont l'homme et les canidés (en particulier le chien domestique) [2]. La leishmaniose se manifeste sous différentes formes cliniques chez l'homme, notamment trois formes (viscérales, cutanées et cutanéomuqueuse) et sous les traits d'une maladie protéiforme, combinant toutes les formes cliniques chez le chien.

Cette maladie menace les êtres humains dans 88 pays du monde et, son incidence annuelle est particulièrement élevée (2 millions de personnes contaminées chaque année) (World Health Organization [3]). Cette affection est présente sur les quatre continents et, de façon endémique dans le bassin méditerranéen.

L'homme a de tous temps été à l'origine de modifications du milieu dans lequel il évolue. Ainsi, les changements structuraux du paysage, des pratiques sanitaires et écologiques ainsi qu'éco-climatiques sont autant de facteurs pouvant influencer sur la répartition des maladies vectorielles et sur leurs modalités de transmission.

En Algérie nous assistons malheureusement à l'instar de beaucoup de pays dans le monde, à tous ces changements. C'est ainsi que nous remarquons une urbanisation galopante et des pratiques non civiques conduisant à l'émergence de nouveaux biotopes favorisant la propagation de maladies vectorielles telle que la leishmaniose déjà à l'état endémique dans notre pays. La leishmaniose est une zoonose et le chien constitue à ce jour le réservoir principal de la pathologie.

Dans notre culture arabo-islamique et dans nos traditions, le chat a de tous temps été « sacralisé » et tient une place prépondérante dans notre société, faisant de cet animal un compagnon proche de l'homme à tel point que ce dernier fait fi par ignorance de tous les dangers que pourrait représenter ce félin domestique pour sa santé (ex : la toxoplasmose dont il est le principal réservoir). Moins d'une quarantaine de cas de leishmaniose féline ont été recensés jusqu'à présent dans le monde [4]. La maladie chez le chat semble être rare et encore mal connue voire méconnue et de ce fait sous diagnostiquée.

L'objectif de notre travail est de déterminer la prévalence de la leishmaniose chez le chat dans la région d'Alger.

La première partie est une étude bibliographique de la leishmaniose.

La deuxième partie est une étude expérimentale de la pathologie, rendue possible grâce à des méthodes cliniques et sérologiques réalisée à partir d'échantillons d'animaux (50 chiens et 50 chats errants) tirés au sort au niveau de la fourrière canine d'Alger.

Ce choix s'est fait dans le but de comparer deux (2) populations exposées au même risque infectieux dont l'une est reconnue comme réservoir principal de la leishmaniose (le chien) et l'autre présumée source d'infestation (le chat).

L'essentiel du travail sérologique chez le chat est basé sur l'utilisation d'une méthode non spécifique en l'occurrence la FLG (Formol Leuco Gélification) et d'une autre méthode plus spécifique et plus sensible le Witness leishmania (test de migration rapide), en plus des observations cliniques mettant en évidence des lésions évocatrices sur les animaux prélevés tels que les chancres d'inoculation et les ulcérations.

Chapitre 1 : la leishmaniose

1-Généralités

1.1- Définition

La leishmaniose canine est une protozoose infectieuse, inoculable exceptionnellement contagieuse, due au développement et à la multiplication dans les cellules du SPM (Système des Phagocytes Mononuclés) de parasites du genre *Leishmania* transmis par la pique d'un insecte vecteur, le phlébotome [5].



Figure 1-1 : Répartition mondiale des zones d'endémie de la leishmaniose [6]

1-2- Importance

L'importance de la leishmaniose est multiple :

1.2.1 Médicale

La leishmaniose affecte de nombreux chiens en zone d'endémie et, sa prévalence comme son incidence sont relativement élevées. La prévalence sérologique peut atteindre 30% à 40% de chiens selon les zones étudiées et, l'incidence est notable. L'importance médicale est majorée par la difficulté du diagnostic, liée à l'existence de chiens porteurs asymptomatiques, à une longue durée d'incubation et, à une expression clinique protéiforme.

1.2.2 Economique et sociale

L'importance économique de la leishmaniose est liée aux coûts engendrés par la

recherche de diagnostic (consultations, examens complémentaires) mais aussi par le traitement fastidieux, long (souvent à vie) et dispendieux. Dans le meilleur des cas, la guérison n'est que clinique : l'animal n'est jamais stérilisé de ces parasites et restera porteur à vie

Concernant la leishmaniose humaine, les coûts relatifs aux consultations, aux examens de laboratoire, aux soins, aux journées d'hospitalisation et au traitement sont tels que dans certains pays le budget qui leur est consacré dépasse celui des soins de santé publique [3].

L'importance sociale est liée au fait que la leishmaniose canine est une zoonose majeure, parfois mortelle. La leishmaniose viscérale méditerranéenne n'est plus comme autrefois une maladie de l'enfant mais s'exprime la plupart du temps chez des sujets immunodéprimés de façon iatrogène (traitements immunosuppresseurs pour les greffes, corticoïdes, anticancéreux [7]) ou de façon pathologique (coinfection par le virus de l'immunodéficience acquise VIH [8]). Le chien représente le principal réservoir, mais l'homme co-infecté a été en mesure d'infecter le phlébotome [9]. Ceci laisse supposer qu'à l'avenir des transmissions directes d'homme à homme pourraient se produire.

1-2- Réservoirs

Le réservoir de *Leishmania infantum* est connu depuis la découverte princeps de Nicolle & Conile à Tunis en 1908, comme étant essentiellement canin. Dans toute la région méditerranéenne, le réservoir principal semble être constitué par les chiens domestiques [10], bien qu'un réservoir sylvatique soit également présent avec une prévalence de 55% chez les renards [11].

Dunan et al [12] ont signalé la présence chez le chat (*Felis felis*) de *Leishmania* dans des foyers de leishmaniose canine. De plus des travaux expérimentaux ont démontré qu'une réponse sérologique significative du chat au parasite inoculé par voie intraveineuse existe, sans que l'animal ne présente des signes cliniques [13]. Quelques rares cas de rongeurs ont été trouvés infestés par *Leishmania infantum*, notamment le rat [14].

2 – Etude du parasite

2.1 - Taxonomie

L'infection est due à un protozoaire flagellé, *Leishmania spp.*, appartenant à

l'ordre des *Kinetoplastida*, et à la famille des Trypanosomatidés.

PHYLUM : Protozoaires

SUB-PHYLUM : *Sarcomastigophora*

(Protozoaire présentant un appareil locomoteur)

CLASSE : *Zoomastigophora*

(Protozoaire possédant un ou plusieurs flagelles)

ORDRE : *Kinetoplastidae*

(Possède un kinétoplaste, au maximum 2 flagelles, sans d'axostyle)

FAMILLE Trypanosomatidae

(Protozoaire possédant un seul flagelle)

GENRE: *Leishmania*

Différentes espèces de leishmanies responsables de leishmanioses félines ont pu être identifiées : *Leishmania venezuelensis* au Venezuela [15], *Leishmania mexicana* au Texas [16], *Leishmania major* en Egypte [17], *Leishmania panamensis* [18] et *Leishmania braziliensis* [19] au Brésil, *Leishmania infantum* dans le Sud de la France [20]; [21], en Italie [22]; [23], et au Brésil [24]. Ces résultats concordent avec les espèces de leishmanies circulant dans ces régions, excepté pour *Leishmania chagasi* (= *Leishmania infantum*) identifiée chez un chat à Sao Paolo, ou aucun cas de leishmaniose canine ou humaine n'avait encore été rapporté [24].

Des méthodes biochimiques permettent de différencier les leishmanies par leur équipement enzymatique. Par analyse électrophorétique des enzymes, on obtient pour chaque souche de leishmanies un profil enzymatique caractéristique appelé zymodeme : noté MON (comme Montpellier, centre de référence), suivi d'un numéro spécifique. En Italie, sur 5 chats, 3 zymodemes différents ont été typés : MON1 (3 chats), MON72 et MON201. En France, *L. infantum* MON1 a été identifié sur 3 chats testés : ce zymodeme étant le plus largement répandu en Europe du sud (bassin méditerranéen [25].

2.2- Morphologie

Les leishmanies sont des protozoaires flagellés dimorphes présentant [26]

- Forme promastigote, allongée, de 15 à 20 µm de longueur, avec un flagelle libre. Cette forme mobile est observée uniquement chez le vecteur et en culture.

- Forme amastigote, globuleuse, de 4 μm de diamètre, avec un flagelle intracytoplasmique appelé rhizoplaste. Cette forme est observée dans les cellules du système des phagocytes mononucléés (S.P.M), au sein d'une vacuole parasitophore de l'hôte définitif (Principalement chien et homme).

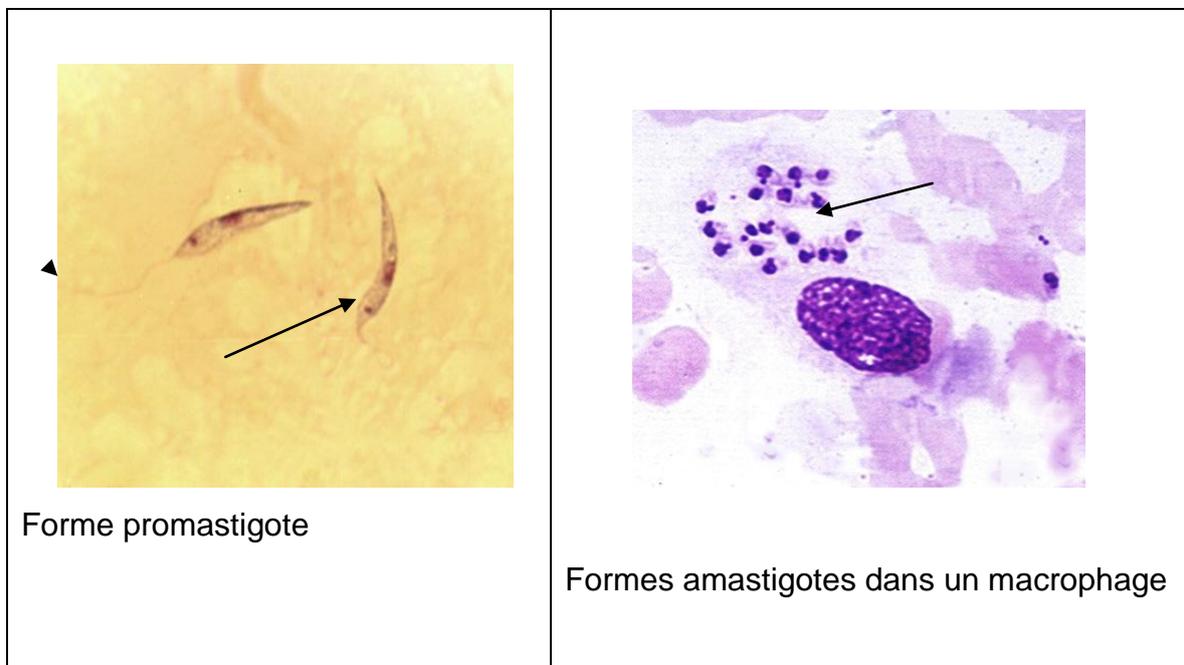


Figure 1- 2 : Morphologie des Leishmanies (Instruction-cvhs.okstate.edu)

2.3 - Biologie : Cycle évolutif

Le cycle biologique des leishmanies est dixéne [26], avec un vecteur hôte intermédiaire et un hôte définitif. Le vecteur est représenté par un insecte hématophage : le phlébotome, et l'hôte par un mammifère (généralement un chien ou un homme).

Chez l'hôte vertébré, les leishmanies survivent et se multiplient par bipartition sous forme amastigote dans les cellules du système des phagocytes mononucléés (macrophages, histiocytes, cellules réticulaires de la rate, des ganglions, de la moelle osseuse, cellules de Kuppfer du foie, et les monocytes). Leur prolifération entraîne l'éclatement des cellules parasitées et la généralisation de l'infection dans l'organisme de l'hôte.

La femelle du phlébotome s'infecte lors du repas sanguin à partir des formes amastigotes qui se transforment en promastigote. Les leishmanies se multiplient alors par scissiparité dans l'intestin moyen avant de subir une évolution supra-pylorique. Les promastigotes remontent vers les pièces buccales et réinfectent un nouvel hôte lors d'un autre repas sanguin, redonnant des formes amastigotes.

L'hôte principal est représenté par les canidés, principalement le chien. La place des canidés sauvages, et en particulier du renard, dans le cycle du parasite n'est pas encore entièrement déterminé [27]. D'autres mammifères peuvent être porteurs de leishmanies et constituer des réservoirs secondaires, en particulier les rongeurs. La place du chat en tant qu'hôte reste méconnue.

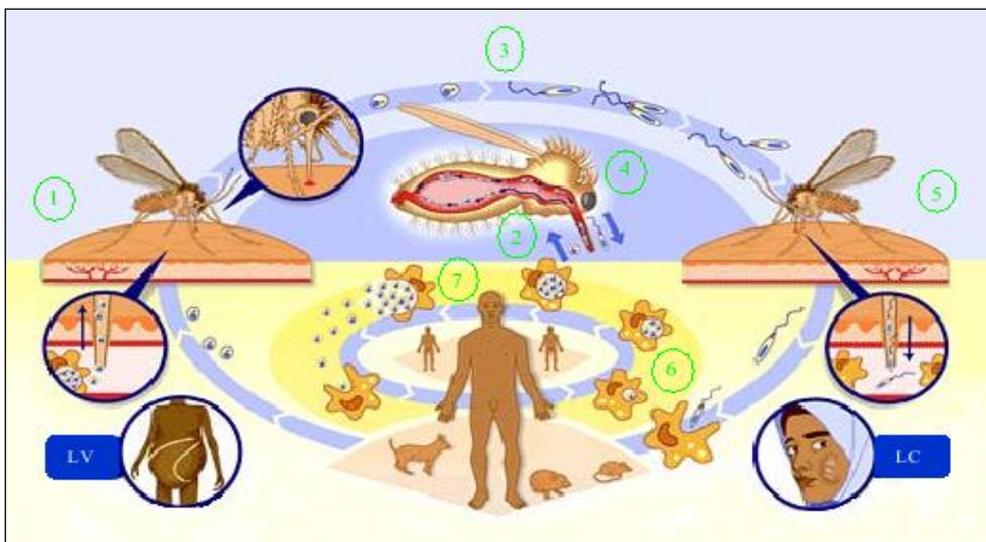


Figure 1-3 : Cycle évolutif des Leishmanies cutanées et viscérales (UNICEF)

Le vecteur est le phlébotome, insecte diptère de la famille des Psychodides et du genre *Phlebotomus*. Seule la femelle est hématophage, donc susceptible de véhiculer la leishmaniose. Les phlébotomes ont une activité crépusculaire et nocturne, en région chaude et en l'absence de vent. Parmi les quatre espèces vectrices de *Leishmania infantum* en Europe,

P. perniciosus est l'espèce la plus largement répandue, du Portugal à la Grèce, *P. ariasi* étant rencontrée du Portugal au nord-ouest de l'Italie. En Europe orientale, la leishmaniose peut être transmise par *P. perfiliewi* et *P. neglectus*. D'autres espèces jouent ponctuellement le rôle de vecteur [27].

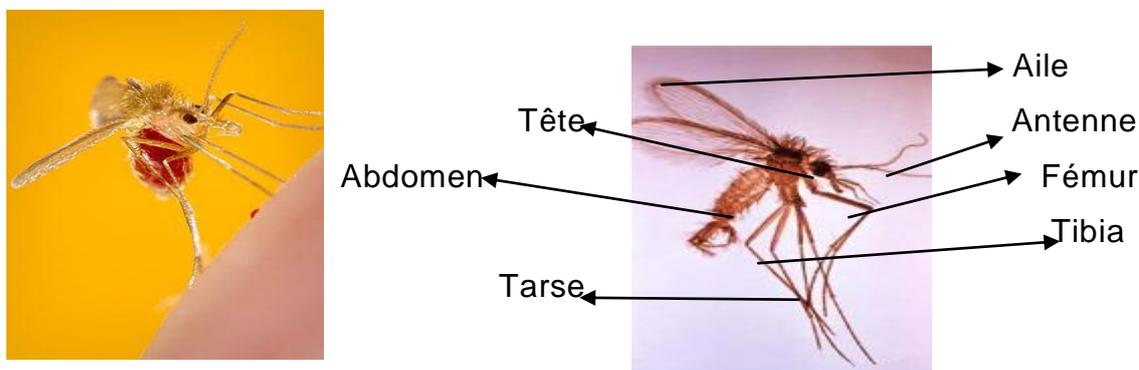


Figure 1-4 : Aspect général de phlébotomus *papatasi* (Wikipedia)

La femelle phlébotome est telmophage : elle se nourrit d'un mélange de sang et de lymphe formé à la suite d'une piqûre, assurée par des pièces buccales de fort calibre. Ce repas s'effectue de manière interrompue, à la suite de plusieurs piqûres, sur le même individu ou non. Le repas se compose aussi de l'absorption de sucres obtenus en particulier à partir de sève végétale. Cet apport se révèle d'ailleurs indispensable à la transformation et à la multiplication des leishmanies dans le tube digestif du phlébotome [5].

La salive inoculée est allergisante (érythème, douleur) et participe activement à l'installation et à la multiplication des leishmanies chez l'hôte [28].

La transmission s'effectue à la faveur d'une pique par un phlébotome infecté lors d'un repas précédant sur un hôte porteur de leishmanies. Des « couples leishmanie/phlébotome ont été identifiés et, dans de nombreux cas, espèce de phlébotome vecteur d'une espèce de *Leishmania* ne permet pas le développement et la transmission d'une autre espèce de *Leishmania*. Chez le chien, de rares cas déclarés en zone non endémique mais ayant côtoyé des chiens leishmaniens laissent supposer la possibilité d'une transmission de la maladie par contact direct. La contamination in utero et par accouplement est possible. Chez l'homme le parasite peut être transmis par des aiguilles souillées ou par transfusion [29].

La longévité de ces insectes est de l'ordre de quelques mois. Un cycle gonotrophique complet dure environ 6 semaines. La femelle ne prend qu'un seul repas sanguin par cycle. Au moins 6 jours après ce repas de sang, elle pond entre 80 et 100 œufs qu'elle dépose dans un gîte humide, sombre et sablonneux. Quatre stades larvaires se succèdent ensuite et aboutissent à la formation d'une nymphe qui évoluera en imago. La survie hivernale est assurée par les stades larvaires en diapause. Les adultes apparaissent au printemps et sont présents pendant toute la période estivale, jusqu'à l'automne. Toutefois la longévité des adultes varie d'un endroit à un autre, en fonction des conditions climatiques [5], [28].

A l'heure actuelle, chez le chat, rien n'a été démontré, et aucune infection expérimentale n'a été réalisée en utilisant des phlébotomes, mais seulement des voies intraveineuses [13] et intradermiques [30]. Après la transmission des leishmanies au chat, leur pouvoir pathogène est susceptible de s'exprimer.

2.4 - Pouvoir pathogène

La pathogénie de la leishmaniose est complexe et méconnue chez le chat. Elle repose sur les caractéristiques antigéniques du parasite et sur des mécanismes qui ont été étudiés à partir de modèles expérimentaux.

2.4.1- Antigènes majeurs du parasite Les leishmanies possèdent de nombreux antigènes de surface, dont certains sont communs à d'autres protozoaires. Certains de ces antigènes jouent un rôle clef dans la réponse immunitaire, la GP 63 et le LPG [31].

- GP 63

Il s'agit de la glycoprotéine majeure de surface de la leishmanie. Elle intervient dans le processus d'échappement du parasite au système de défense de l'hôte et dans sa capacité à le coloniser. Cette glycoprotéine est capable d'induire une réaction immunitaire favorable.

Elle constitue un des antigènes majeurs présentés par les cellules présentatrices d'antigènes au système immunitaire.

- LPG

Le LPG, ou lipophosphoglycane, est un antigène présent à la surface des formes promastigotes de certaines espèces de leishmanies. Il permet la fixation des parasites aux cellules intestinales des phlébotomes. Le LPG varie d'une espèce de leishmanie à une autre et explique l'existence de « couples » conditionnés entre certaines espèces de phlébotomes et certaines espèces de leishmanies.

2.4.2 - Inoculation de souches félines à des animaux de laboratoire

En 1933, Mac Hattie *et al.* Cités par [32] isolent *Leishmania tropica* partir de lésions cutanées de deux chats leishmaniens irakiens. Aucun parasite n'est retrouvé dans le foie, la rate et la moelle osseuse. Les souches d'un des deux chats sont cultivées sur milieu NNN (Nicolle, Novay, Mc Neal) puis inoculées à des souris blanches par scarification au niveau de la queue. 30 jours plus tard, les frottis de queue, foie, rate, moelle osseuse sont négatifs. D'autres souris blanches sont infectées parallèlement avec deux souches canines. Ces souris développent des lésions au point d'inoculation de la queue, et de nombreuses leishmanies sont observées dans la rate et la moelle osseuse. Ils en déduisent

que le passage de *L. tropica* chez le chat semble atténuer sa virulence.

En 1986, Craig *et al.* [33] Inoculent *Leishmania mexicana* isolée d'un chat atteint de leishmaniose cutanée à des hamsters et à un chien. Un premier lot de hamsters est infecté par voie intradermique au niveau du museau ; ils observent le développement de lésions avec la présence de leishmanies. Un second lot est infecté par voie intra-péritonéale ; ils rapportent l'apparition de lésions sur une oreille et un membre postérieur, avec la présence de leishmanies qui sont également retrouvées dans les nœuds lymphatiques parotidiens. Après inoculation au chien par voie intradermique, ils notent une lésion sur l'oreille, semblable à celle observée chez le chat, mais ne contenant pas de leishmanies et guérissant spontanément. Ils en déduisent que *Leishmania mexicana* possède un tropisme cutané chez le chat, que cette espèce est pathogène chez le hamster mais non chez le chien. [33]. En 1991, Bonfante-Garrido *et al.* [15] réussissent à inoculer à des hamsters du matériel prélevé sur trois chats présentant des nodules leishmaniens [15].

En 2002, dans les travaux de Poli *et al.*, [22] un nodule et des nœuds lymphatiques contenant des leishmanies sont prélevés chez un chat ; le matériel est inoculé à des hamsters, sans résultat. Pour l'instant, l'inoculation de leishmanies du chat à d'autres espèces s'est révélé fructueuse seulement chez des hamsters et a échoué chez le chien. La virulence des leishmanies serait-elle atténuée chez le chat ? Le chat constituerait-il une impasse parasitaire ?

2.4.3 - Réponse immunitaire

La relation hôte-parasite est très complexe dans le cas de la leishmaniose. Elle dépend de l'espèce en cause, et de la réceptivité de l'hôte (réceptivité spécifique et individuelle). Les données suivantes sont extrapolées à partir du modèle du chien. L'inoculation de *Leishmania* par le phlébotome peut entraîner deux types d'évolution [31]:

- Infection localisée à la peau, chez l'animal résistant, qui développe une réponse de type Th1 à médiation cellulaire. L'animal est généralement séronégatif ou faiblement séropositif. Cette réponse immunitaire est fondée sur des phénomènes de cytotoxicité faisant intervenir les lymphocytes tueurs (CD8+ et NK). Elle est généralement insuffisante pour entraîner une disparition des parasites.

- Dissémination du parasite et une extension de la maladie aux noeuds lymphatiques, à la rate et à la moelle osseuse chez l'animal sensible, qui développe une réponse de type Th2 à médiation humorale. Des anticorps sont produits, mais ils n'ont aucun rôle protecteur. L'animal est en général immunodéprimé, et présente un faible taux de lymphocytes CD4+ circulants. Cette distinction entre animal résistant et animal sensible est fragile, un animal résistant pouvant devenir sensible sous l'effet de médicaments, d'infections, d'infestations parasitaires ou de néoplasie.

Chapitre 2 : Epidémiologie

La leishmaniose (humaine et animale) est une maladie cosmopolite, présente en Afrique, Moyen-Orient, Amérique du Sud, Inde, et sur le pourtour méditerranéen. Elle concerne 88 pays et la prévalence mondiale de la maladie humaine est actuellement estimée autour d'un demi-million de personnes [34].

2-1-Epidémiologie descriptive

Des cas sporadiques en zone non endémique sont observés : cas ectopiques, exceptionnels, pour lesquels les circonstances de la contamination ne sont pas toujours connues. Plus importants sont les cas de chiens leishmaniens examinés en zone non endémique mais contaminés dans le sud du pays et qui expriment la maladie dans leur lieu de résidence habituel. La circulation de plus en plus importante de nos compagnons ne fait qu'augmenter le nombre de cas diagnostiqués [35].

Chez les humains, les cas sont de plus en plus fréquents, en particulier chez ceux au système immunitaire fragilisé, comme les personnes contaminées par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) : depuis 2004, outre les 6.000 chiens infectés, on enregistre chaque année une trentaine de personnes atteintes [34]. Les infections ont lieu du printemps à l'automne, période d'activité des phlébotomes. L'expression clinique est répartie sur toute l'année du fait d'une incubation extrêmement variable.

2-2-Epidémiologie analytique

2-2-1- Espèces réservoirs

Les sources de parasites sont les chiens hébergeant des leishmanies dans le derme ; les parasites peuvent être présents dans la peau même en l'absence de lésions cutanées. Au contraire, chez les humains, on ne trouve pratiquement jamais de leishmanies dans le derme (sauf chez les immunodéficients), si bien que l'homme n'est pas source habituelle d'infection pour les phlébotomes.

Les chiens, en raison de cette abondance de parasites dans le derme et de la fréquence de leur infection, constituent les véritables réservoirs habituels de la maladie humaine.

Cependant, *Leishmania infantum* affecte également le chat, des rongeurs sauvages et des carnivores sauvages (renard) mais le rôle épidémiologique de ces animaux en tant que réservoir de la maladie humaine est inconnu [36]

2-2-2- Transmission

La transmission du parasite s'effectue quasi exclusivement par piqûre de phlébotome, en particulier dans les zones glabres du corps de l'animal : chanfrein, conques auriculaires.

La contagion directe est possible mais extrêmement rare, nécessitant l'existence de lésions ouvertes (ulcères) permettant le passage de leishmanies dans les larmes, le jetage, la salive, ou à la surface de la peau.

Enfin, la transmission *in utero* est également possible mais probablement exceptionnelle [36]. De même, une transmission vénérienne n'est pas exclue car les leishmanies sont présentes dans le sperme et des chiennes ont été infectées par cette voie [37].

2-2-3- Facteurs favorisants

L'abondance des vecteurs favorise les piqûres. Les phlébotomes sont particulièrement actifs et abondants dans les zones d'endémie en été, dans des zones protégées du vent, au crépuscule et, près du sol. Enfin, on a pu considérer que le pelage à poils longs pouvait jouer un rôle protecteur ; mais en réalité les vecteurs attaquent des zones peu protégées par les poils (chanfrein, conques auriculaires) [36].

2-3 - Pathogénie

À la suite de l'inoculation de promastigotes par le phlébotome, les leishmanies sont phagocytées par les macrophages. Le phagosome formé, contenant le parasite, effectue sa fusion avec les lysosomes primaire et secondaire, pendant que le promastigote se transforme en amastigote, survit et se multiplie.

La prolifération des leishmanies dans les macrophages provoque la destruction de ceux-ci et la réaction du système des phagocytes mononucléés : prolifération intense dans la rate, le foie, les nœuds lymphatiques, entraînant une hypertrophie de ces organes, une anémie par hypersplénie et des lésions cutanées par invasion macrophagique du derme. Des lésions sont également provoquées par la formation de complexes immuns et d'auto-anticorps se déposant dans les glomérules rénaux, dans les articulations, sur les hématies, d'où hémolyse extravasculaire [5].

2-4- Symptômes

La leishmaniose canine a une symptomatologie très polymorphe, pouvant associer simultanément des signes généraux et cutanés. Les symptômes peuvent être plus ou moins marqués et d'évolution plus ou moins rapide, permettant la distinction de formes aiguës et de formes chroniques, ces dernières représentant la majorité des cas.

Les neuf symptômes les plus fréquemment rencontrés dans la leishmaniose canine sont : des lésions dermatologiques (figure 5), un amaigrissement ou une anorexie (figure 6), une lymphadénopathie localisée ou généralisée, des lésions oculaires, une épistaxis, un abattement, une anémie, une insuffisance rénale, de la diarrhée ; toute combinaison de symptômes étant possible. Ces signes cliniques apparaissent au terme d'une période d'incubation dont la durée varie entre 3 mois et 1 an après l'inoculation des leishmanies par le phlébotome [38], [34]. Le tableau 2-1 résume les symptômes observables.

Tableau 2-1 : Symptômes observés lors de leishmaniose canine [39].

Localisation	Symptômes et lésions
Etat général	Abattement, prostration, anorexie. Amaigrissement. Hyperthermie irrégulière, fugace et modérée (39°C à 39,5°C).
Peau et phanères	Calvescence, alopecie. Chancre d'inoculation, inconstant et fugace. Hyperkératose, parakératose Onychogryphose. Ulcères cutané-muqueux. Granulomes, nodules non adhérents.
Système des phagocytes mononuclées	Adénomégalie indolore, symétrique (concerne essentiellement les noeuds lymphatiques superficiels). Splénomégalie, modérée et inconstante. Envahissement de la moelle osseuse.
Œil	Uvéite antérieure non granulomateuse avec photophobie. Conjonctivite et leishmaniomes. Kératite banale ou stromale.
Appareil urinaire	Insuffisance rénale (glomérulonéphrite).
Système sanguin	Hyperprotéïnémie avec hypoalbuminémie et Hypergamma-globulinémie (pic électrophorétique oligoclonal des gammaglobulines en « pain de sucre »). Anémie normochrome, leucocytose puis leucopénie, monocytose.
Squelette	Ostéolyse et ostéoprolifération des diaphyses. Sclérose. Polyarthrite, synovite.
Muscles	Amyotrophie. Granulomes.
Système nerveux	Dégénérescence neuronale, amyloïdose de l'encéphale et du cervelet. Rupture de la barrière hémato-méningée.
Appareil respiratoire	Rhinite, pneumonie. Inflammation des muqueuses, épistaxis.
Appareil digestif	Entérite. Colite chronique. Ulcères et granulomes.

Cependant, certains chiens infectés par *Leishmania infantum* ne développent pas la maladie et sont totalement asymptomatiques. Ils peuvent seulement présenter une réaction locale appelée « chancre d'inoculation », à l'endroit de l'inoculation des parasites par le phlébotome. Cela se manifeste par un nodule cutané alopecique, ulcéré et croûteux, de 1 à 3 cm de diamètre, non prurigineux et modérément douloureux. Il se situe souvent sur le chanfrein ou les pavillons auriculaires. Ce nodule peut disparaître spontanément au bout de quelques mois [38].

Pour les sujets qui présentent des symptômes, la maladie évolue lentement mais irrémédiablement vers la mort. C'est souvent l'insuffisance rénale qui est la cause du décès de l'animal.

Nous nous interrogerons également sur la réceptivité et la sensibilité du chat aux leishmanies. Ce paragraphe repose en partie sur les données épidémiologiques des 35 cas recensés dans la littérature mondiale.

2-5 - Prévalence et incidence

La prévalence correspond au nombre de cas recensés à une période donnée. On distinguera la prévalence mesurée par des méthodes parasitologiques, la prévalence mesurée par des méthodes sérologiques et enfin la prévalence clinique, correspondant au recensement de chats leishmaniens présentant des signes cliniques.

L'incidence est le nombre de nouveaux cas recensés dans une période donnée.

2-5-1- Méthodes parasitologiques

Les méthodes utilisées sont variables : cytologie, histologie, PCR (Polymérase Chain Réaction). La cytologie et l'histologie donnent des résultats très faibles, excepté dans l'étude de Morsy *et al.* en 1980 [25]. Aujourd'hui, ces méthodes sont abandonnées au profit de la PCR (Polymerase Chain Reaction) qui offre une grande sensibilité. Les pourcentages de chats dépistés sont bien supérieurs, mais il reste toutefois une grande variabilité entre les résultats observés (Tableau 2-1).

Plusieurs facteurs expliquent la disparité des taux de prévalences obtenues (0 à 60,6%) :

D'abord les méthodes utilisées varient d'une enquête à l'autre : les méthodes cytologiques ont une sensibilité beaucoup plus faible que les méthodes PCR (sensibilité de la PCR sur sang soit remise en question chez le chien [40]).

Les échantillons analysés ne sont pas les mêmes (foie, rate, oreille ou sang).

Les régions et les périodes d'études sont très dispersés, les populations échantillonnées ne sont donc pas soumises aux mêmes pressions d'infection.

La méthode cytologique, par la mise en évidence directe de leishmanies chez 18 chats, démontre l'existence d'une circulation des leishmanies dans l'espèce féline. Par contre, sa trop faible sensibilité est un inconvénient majeur pour mesurer l'importance de cette circulation.

La PCR, au contraire, présente une très grande sensibilité en révélant la présence de l'ADN du parasite, mais elle ne présage ni de l'état des leishmanies ni de leur pouvoir infectant.

Tableau 2- 2 : *Leishmaniose féline-Méthodes parasitologiques.* [25]

AUTEUR, Date Pays	Technique	Source	Positifs /Examinés
Giordano 1933* Italie	Cyto-Histologie	Rate / foie / m.os	0/120 (0)
Ondovilla, 1933* Espagne	Non précisé	Non précisé	1/495 (0,2)
Chagas <i>al</i> , 1938* Brésil	Cytologie	Foie	1/202 (0,5)
Alencar <i>al</i> , 1955* Brésil	Cytologie	Foie	0/214 (0,0)
Deane, 1956* Brésil	Cytologie	Foie	0/142 (0,0)
Morsy et <i>al.</i> , 1980* Jordanie	Cytologie	Foie, rate	16/78
Sherlock, 1996* Brésil	Cytologie	Oreille	1/53 (1,9)
Pennisi et <i>al.</i> , 2000* Italie	PCR	Sang	54/89
Martin-Sanchez-2007	PCR	Sang	47/180
TOTAL			120/1573 (7,6)

2-5-2 - Méthodes sérologiques

Ces études présentent également des résultats très dispersés : de 0 à 60%. Les facteurs cités précédemment expliquent cette observation : pressions d'infection différentes d'une région à une autre, variabilité des méthodes employées (principes, valeurs seuils). Des doutes ont d'ailleurs été émis quant à la valeur du dépistage sérologique dans le cadre de la leishmaniose féline [41], comme nous le reverrons par la suite. Les méthodes sérologiques montrent que des chats ont été en contact avec le parasite et ont développé une réponse immunitaire, mais elles ne mettent pas directement en évidence la circulation du parasite .

Ces recherches sur la prévalence de la leishmaniose féline prouvent qu'une circulation du parasite au sein de la population féline existe (18 cas dépistés par observation directe du parasite), et qu'à l'issue de ces enquêtes, une moyenne de 12,1% à 19,1% des chats testés a été en contact avec des leishmanies. Les méthodes PCR et sérologiques ne sont pas des témoins directs de la circulation des leishmanies chez le chat, et la cytologie et l'histologie sont peu sensibles. Il s'avère donc difficile d'estimer l'importance de la circulation des leishmanies chez le chat, ce qui s'explique également par la disparité régionale des pressions d'infection. D' ailleurs, les enquêtes épidémiologiques réalisées chez le chien présentent également des résultats très variables selon les régions.

Tableau 2-3 - *Leishmaniose féline : Méthodes sérologiques.*

AUTEUR Date Pays	Technique sérologique	Positifs
Michael <i>et al.</i> , 1982* Egypte	IHA	3/80 (3,7)
Morsv <i>et al.</i> , 1988* Egypte	IHA	1/28
Bez, 1992 France	IFI	1/174 (0,6)
Marechal, 1993 France	WB	14/110
Morsy, Aboul- El-Seoud, 1994*	IHA	2/60
Sherlock, 1996* Bresil	IFI	0/53 (0,0)
Pennisi <i>et al.</i> , 1998* Italie	IFI	55/93
Ozon <i>et al.</i> , 1999 France	WB	12/97 (12,4)
Simoes-Mattos <i>et al.</i> , 2001* Bresil	ELISA	9/84 (10,7)
Simoes-Mattos <i>et al.</i> , 2002* Bresil	ELISA	43/106
Oliveira, 2002* Bresil	IFI	45/89
Portus <i>et al.</i> , 2002* Espagne	ELISA	2/117
Ramos <i>et al.</i> , 2002* Espagne	DAT	21/50
Poli <i>et al.</i> , 2002 Italie	IFI	1/110
Vita <i>et al.</i> , 2005 Italie	IFI	33/203
Solano-Gallego <i>et al.</i> , 2007 Espagne	ELISA-prot A (44 UE)	28/445 (6,3)
Martin-Sanchez <i>et al.</i> , 2007 Italie	IFI (1/10)	108/180 (60,0)
TOTAL		378/2079 (18)

* Cites par PENNISI, 2006
 IHA Inhibition de l'hérnagglutination
 IFI : Immunofluorescence indirecte
 WB : Western Blot
 DAT : Test d'agglutination directe UE: Unite ELISA

2-5-3 -Prévalence et incidence cliniques

Moins d'une quarantaine de cas de leishmaniose féline ont été diagnostiqués dans le monde. 35 cas sont rapportés ici. La prévalence clinique de la maladie parait donc très faible. L'incidence semble avoir augmenté : 9 cas ont été diagnostiqués en 62 ans (entre 1927 et 1989), puis 13 cas en 10 ans (entre 1990 et 2000), et enfin 13 cas en 7 ans (entre 2000 et 2007). Ceci peut s'expliquer par 1' amélioration des outils diagnostiques, une recherche accrue de la maladie chez le chat et/ou une augmentation de la pression d'infection. Cette observation laisse toutefois supposer que la leishmaniose féline pourrait être largement sous diagnostiquée. [4]

2-6-Répartition géographique

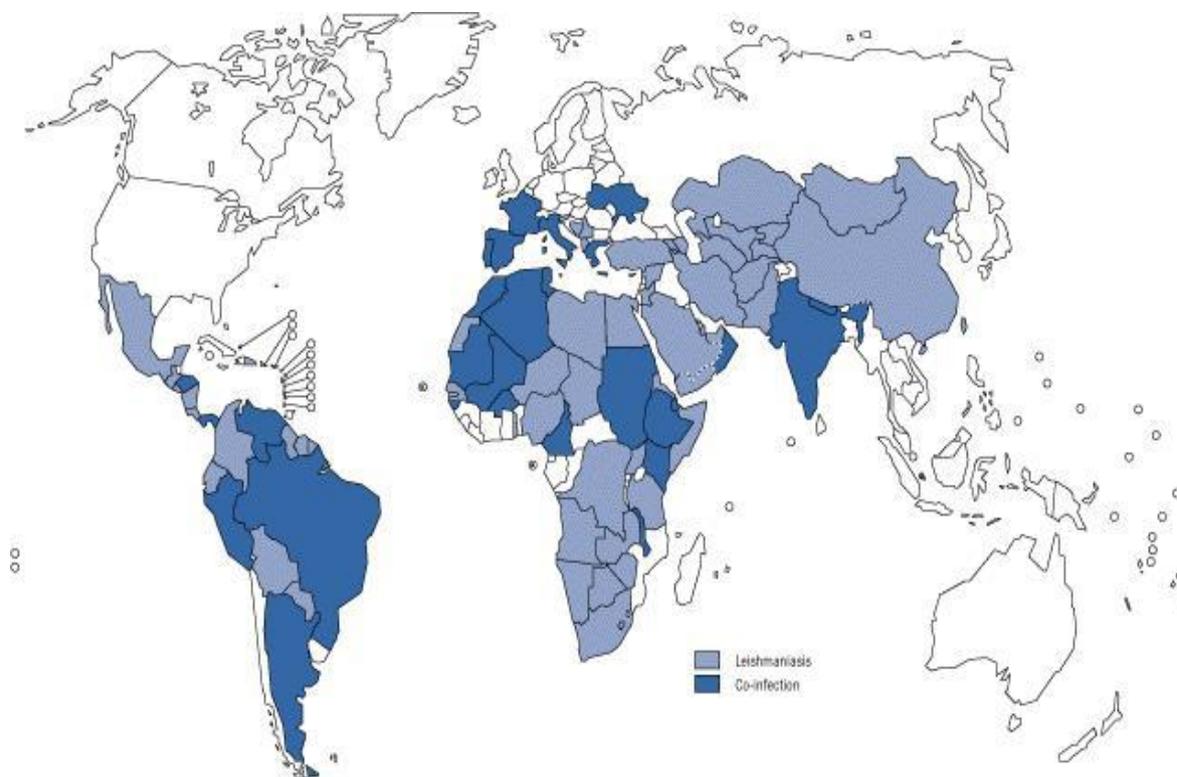


Figure 2-1 : Répartition mondiale de la leishmaniose-Source <http://www.who.int/csr/resources/figure23.gif>

Le premier cas de leishmaniose féline reporté dans la littérature date de 1912 à Alger (Sergent *et al.*, 1912, cités par Pennisi [42]). Parmi les 35 cas répertoriés, nous trouvons :

- Amérique (12 cas): Brésil (6 cas), Argentine (1 cas), Venezuela (4 cas), Texas (1 cas).
- Asie (3 cas): Irak (2 cas), Vietnam (1 cas).
- Afrique (2 cas): Algérie (1 cas), Ile de la Réunion (1 cas).
- Europe (18cas): Suisse (3cas), France (4cas,) Portugal (1cas), Espagne (4cas), Italie (6).



Figure 2.2 : Carte de répartiion des cas de leishmaniose féline rapportés

Cette répartition correspond aux fortes zones d'endémie, où la pression parasitaire est importante. Des enquêtes épidémiologiques ont également été réalisées dans ces mêmes régions du globe. En Egypte, les enquêtes ont montré des prévalences sérologiques inférieures à 5% [106] ; Morsy *et al.*, 1988 cités par [25]), mais ces études ne sont pas récentes. En France, un taux de prévalence de 12,7% a été mesuré [43]. Des taux de prévalences sérologiques supérieurs à 40% ont été obtenus en Espagne (Ramos *et al.*, 2002 cités par [25]), au Brésil (Simoes-Mattos *et al.*, 2002 ; Oliveira, 2002 cites par [25]), et en Italie [41]. Il n'existe aucune donnée sur les régions à plus faible pression parasitaire ou nouvellement infectées. La leishmaniose féline reste inféodée dans les zones où circule le vecteur du parasite, le phlébotome.

La leishmaniose féline à *L. infantum* a été trouvée dans l'état de Sao Paulo, au Brésil, où les cas autochtones de leishmaniose humaine ou canine n'ont jamais signalés. En Iran [44] *Leishmania infantum* a été détectée chez 4 des 40 chats errants prélevés (10%). Le parasite a été isolé dans la rate (3 cas) et le foie d'un chat et dans le milieu de culture. Enfin, récemment en Europe des cas sporadiques de leishmaniose équine à *L. infantum* ont été signalés.

2-6-1 - Variations saisonnières

Les phlébotomes présentent une activité saisonnière marquée.

La leishmaniose féline serait-elle donc soumise à des variations saisonnières ? Mac Hattie *et al.* Suggèrent en 1933 [32] qu'il existe une influence de la saison sur la prévalence. En effet, sur les deux cas de leishmaniose féline qu'ils observent,

les premiers signes cliniques apparaissent en hiver. Evaluant la période d'incubation à deux mois, ils supposent que ces chats ont été contaminés en septembre-octobre.

Une étude menée en 1998-1999 sur 89 chats par PCR ne montre aucune corrélation entre le pourcentage de chats PCR positifs et la saison [17].

Le caractère saisonnier de la maladie dans l'espèce féline est difficile à étudier puisque la durée d'incubation est inconnue.

2-6-2 - Réservoir félin

Une espèce réservoir est définie comme une espèce permettant la survie et la transmission d'un agent pathogène. Pour être considéré comme réservoir de la leishmaniose, le chat doit d'abord permettre l'entretien du parasite, donc être une espèce réceptive, c'est-à-dire apte à héberger les leishmanies et à en permettre la multiplication (sans forcément en souffrir) et ensuite assurer sa transmission au vecteur.

2-6-2-1-Réceptivité du chat

Lors d'une expérience menée en 1993 à Nairobi [45], 12 chats errants sont infectés, par voie intraveineuse pour 6 d'entre eux, et par voie intracardiaque pour les 6 autres, à l'aide d'une souche de *Leishmania donovani*. Un chat de chaque groupe est sacrifié 30, 60, 90, 120, 150 et 180 jours après l'infection. Pour tous les chats, les cultures et frottis sur sang, moelle osseuse, foie, rate, reins et nœuds lymphatiques restent négatifs. Les auteurs en déduisent que les chats domestiques semblent non réceptifs, l'infection par cette souche de *Leishmania donovani*. Pourtant, l'existence de cas cliniques et les dépistages cytologiques de leishmanies chez des chats montrent que cette espèce peut effectivement être réceptive. Pour étudier les facteurs de réceptivité du chat, nous disposons de deux types d'informations : celles concernant les enquêtes épidémiologiques (sérologie et PCR) et celles concernant les 35 cas cliniques répertoriés

Les informations issues des études PCR et sérologiques sont extrapolées, puisqu'elles sont certes le témoin d'un contact leishmanies/chat, mais ne préjugent pas de la survie des leishmanies chez le chat « positif ». Quant aux 35 cas cliniques répertoriés, ce sont des individus réceptifs sensibles : ils hébergent les

leishmanies et en permettent la multiplication, Ils font donc partie de la population réceptive, mais ils n'en représentent qu'une sous-population (sous-population des réceptifs souffrant de l'infection par les leishmanies), ce qui peut fausser les résultats en confondant facteur de réceptivité et facteur de sensibilité. Ces données restent toutefois les seules à nôtre disposition.

2-6-2-2 - Facteurs intrinsèques

- Sexe

On peut s'interroger sur l'influence du sexe sur la réceptivité des chats : les comportements de chasse et de reproduction pourraient entrainer une exposition plus importante aux piqûres. 25 des 35 cas cliniques référencés renseignent sur le sexe. On compte 17 femelles atteintes et 8 mâles. Ainsi, d'après les cas rapportés, les femelles seraient plus atteintes que les mâles, mais compte tenu de la disparité géographique et temporelle des chats, aucune population de référence ne peut 'être utilisée afin d'étudier une éventuelle signification de ces résultats. Lors d'une étude menée sur 89 chats, un taux de 61% de PCR (Polymérase Chain Réaction) positives est obtenu et ces résultats révèlent une association faiblement significative avec le sexe (54% de mâles et 73% de femelles) au sein de la population testée [17].

- Age

En jouant sur l'activité et la sédentarité du chat, l'âge pourrait avoir une influence sur l'exposition du chat. En observant le tableau épidémiologique des cas recensés (22 cas), on remarque que les chats sont d'âges variant, de 4 mois à 15 ans.

La leishmaniose féline touche aussi bien les jeunes, les adultes et les chats âgés. On note cependant que 68,2% des cas ont moins de 6 ans. La maladie semblerait atteindre plutôt de jeunes chats adultes. Toutefois, cette observation est non significative compte tenu des faibles effectifs et de l'absence de population de référence.

L'étude réalisée sur 89 chats, citée dans le paragraphe précédent, montre une corrélation faiblement significative des PCR positives avec l'âge (45% des chats positifs ayant moins de 1 an, 65% ayant entre 2 et 15 ans) [17] .

- Race

Des cas concernant des chats de race sont ponctuellement décrits (Siamois) par Bergeron en 1927 et Bosselut en 1948 [17]. Toujours dans l'étude de Pennisi portant sur 89 chats, aucune influence de la race n'est significativement observée (63% de chats pure race à PCR positive contre 58% de chats non de race à PCR positive, sachant que la population de référence comprend 39% de chats de race et 61% de chats non de race) [17]. On peut s'interroger sur l'influence de la longueur du pelage qui pourrait protéger des piqûres de phlébotomes. Toutefois, les zones à poils courts restent exposées (la tête notamment). Un cas de leishmaniose chez un chat à poil long est d'ailleurs décrit, avec la présence de lésions auriculaires [16].

2-6-2-3- Facteurs extrinsèques

- Mode de vie

Six des cas décrits sont renseignés comme étant des chats ayant accès à l'extérieur. Le mode de vie des autres chats leishmaniens n'est pas précisé.

Dans une étude sérologique réalisée sur 97 chats [46], le nombre de chats séropositifs vivant dans les habitations est inférieur au nombre de chats séropositifs vivant à l'extérieur (il n'est pas précisé si ces résultats sont significatifs).

- Environnement

Il conditionne l'exposition du chat à la maladie : plus le chat séjourne dans une zone à forte pression d'infection, et plus il est exposé. Au sein même des régions à risque, des conditions d'humidité, de température et de végétation peuvent favoriser la présence du vecteur et donc l'infection. On note toutefois l'existence d'un cas de leishmaniose féline retrouvé à Sao Paulo, où aucune leishmaniose canine ni humaine n'avait encore été diagnostiquée [24].

- Infection par des rétrovirus

A l'instar de la leishmaniose humaine dont le virus de l'immunodéficience acquise humaine (HIV) est un facteur de risque majeur, on s'attendait à ce qu'il en soit de même chez -nt du virus de la leucose (FeLV). Lors d'une étude sérologique rétrospective men& sur 93 chats ayant un historique de recherche de FIV, Fe1V

ou coronavirus, 59% des chats présentent une sérologie leishmaniose positive [17]. Dans le groupe des FIV+ (dont l'effectif n'est pas communiqué), la prévalence de la leishmaniose est de 70% contre 39%. Cette enquête conclut que l'infection par le FIV est significativement associée à des titres élevés en anticorps anti-leishmaniens. Depuis, d'autres enquêtes épidémiologiques montrent qu'une positivité à la leishmaniose (par sérologie ou par PCR) n'est pas corrélée à une positivité au FIV ou au Fe1V [47], [48], [41]. Parmi les 35 cas référencés, 16 seulement sont renseignés quant à leur statut FeIV et FIV. 6 cas sont FIV positifs (soit 37,5%) et parmi ces 6 cas, 2 sont également Fe1V positifs.

- Affections intercurrentes

Parmi les 35 cas répertoriés, il est observé une certaine concomitance à la leishmaniose : des affections cutanées (4 cas) et/ou d'autres affections diverses (respiratoires, rénales, génitales) (4 cas), ainsi qu'à des sérologies positives à certains agents infectieux (Toxoplasmose, Coronavirose, Péritonite infectieuse, Bartonellose). Ainsi actuellement, le seul facteur déterminant observé est le lieu de séjour du chat en zone d'endémie. Aucun facteur intrinsèque n'a pu être précisément défini. Le mode de vie pourrait jouer un rôle dans la mesure où le chat serait plus exposé à l'extérieur. Aucun facteur d'immunodépression n'a pu être déduit, ce qui peut paraître surprenant en comparaison avec la leishmaniose humaine.

- Contamination des phlébotomes à partir du chat

Maroli *et al* [49] ont mené une étude afin de savoir si le chat était susceptible de contaminer les phlébotomes. Cette étude est réalisée à partir d'un chat mâle castré de 13 ans provenant de l'île de Lipari (Sicile, Italie), suivi depuis 5 ans pour une périodontite et une adénomégalie mandibulaire. Au début de l'étude, le chat présente une sévère stomatite, associée à une polyadénomégalie. Le test FeIV/FIV est négatif. Une sérologie leishmaniose (immunofluorescence indirecte) révèle un titre en anticorps de 1/160. Une culture, réalisée à partir des noeuds lymphatiques poplités, est positive et *Leishmania infantum* zymodeme MON-1 est identifié. Le chat est anesthésié puis exposé à la morsure de 100 femelles du genre *Phlebotomus perniciosus* qui est le principal vecteur de *Leishmania infantum* en Italie en

général, et sur l'île de Lipari en particulier. Ces femelles sont âgées de 4 à 6 jours. Après 90 minutes d'exposition, tous les phlébotomes sont endormis et observés au microscope. Le sang est collecté individuellement et analysé. 6 à 7 jours plus tard, les moustiques sont disséqués et examinés pour étudier la présence éventuelle de promastigotes dans leurs intestins. Après 90 minutes, 20 femelles sur 100 ont pris un repas sanguin. 19 de ces 20 phlébotomes sont disséqués et chez 4 d'entre eux, des leishmanies promastigotes motiles sont retrouvées dans la région du cardia. Ces leishmanies sont identifiées comme *Leishmania infantum* zymodème MON-1. L'identification moléculaire est confirmée par PCR chez les leishmanies du chat et chez les leishmanies isolées à partir des phlébotomes. Ainsi, 20% des phlébotomes ont piqué le chat, et 21% de ceux-ci sont infectés. Chez le chien, ces pourcentages sont très variables selon les études : de 17,1% à 82,6% de phlébotomes ayant piqués (55% en moyenne), et de 2,8% à 92% d'infectés (39% en moyenne).

Cette étude montre donc qu'un chat naturellement infecté par des leishmanies peut, dans des conditions expérimentales, infecter un vecteur compétent de *Leishmania infantum*. Dans les conditions naturelles, le chat serait donc susceptible de transmettre des leishmanies aux phlébotomes. Il semblerait intéressant de tenter d'infecter secondairement des chiens à partir des phlébotomes contaminés par le chat afin d'observer la virulence des souches après passage chez le chat. De même, il semblerait intéressant de réaliser simultanément et dans un même secteur, une étude épidémiologique à la fois chez le chien et chez le chat afin de pouvoir comparer les prévalences obtenues respectivement. Comme nous l'avons vu précédemment, les comparaisons entre les enquêtes sont difficiles en raison du trop grand nombre de facteurs de variation des résultats (secteur géographique et période d'étude, prélèvements réalisés et techniques de laboratoire utilisées). Pour palier à ces facteurs de variation, une enquête pourrait être réalisée dans les populations canine et féline d'un même secteur, à une même période donnée (les populations étudiées étant ainsi soumises à la même pression d'infection), en utilisant un protocole de prélèvements identique et des techniques de laboratoire similaires.

Les résultats obtenus chez le chat, dont le rôle en tant que réservoir reste non élucidé, pourraient ainsi être comparés à ceux obtenus chez le chien, reconnu réservoir principal de la maladie en zone d'endémie.

2-6-2-4 - Sensibilité du chat

La sensibilité est définie comme l'aptitude d'un animal à exprimer cliniquement l'action d'un agent pathogène. Les cas de leishmaniose féline semblant rares, le chat apparaît comme étant une espèce naturellement peu sensible à la maladie.

On peut donc supposer qu'il existe des facteurs rendant certains animaux sensibles.

Des expériences ont été réalisées au début du XX^e siècle et se sont toutes soldées par un échec, laissant supposer que le chat était une espèce difficile à infecter au laboratoire ou que les techniques de l'époque n'étaient pas suffisamment performantes (Laveran, 1909 ; Nicolle et Blaizot, 1912 ; Giordano, 1934 ; Mello, 1940 ; cites par [32]).

L'expérience de Kirckpatrick [13] a utilisé des chats d'âge et de sexe variables. Ils ne présentent pas de parasites intestinaux ni de signes cliniques de maladie infectieuse, et sont testés négatifs à la leucose et à la toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*). Ils sont vaccinés contre la panleucopenie féline, la rhinotracheite et l'infection à calicivirus. Les souches de leishmanies utilisées sont :

- *Leishmania donovani* type WR 438, isolée à partir d'un chien (espèce appartenant au complexe *Leishmania infantum* d'après la nouvelle nomenclature)
- *Leishmania chagasi* type WR 484, isolée à partir de l'homme (correspondant à *Leishmania infantum* MON-1).

L'inoculation de formes amastigotes par voie intraveineuse est réalisée sur 10 chats pour *Leishmania donovani* (8.10^8 leishmanies inoculées) et sur 5 chats pour *Leishmania chagasi* ($2,5.10^7$ leishmanies inoculées). Chez 9 chats (6 chats et 3 chatons), des formes promastigotes (5.10^6) de *Leishmania chagasi* sont inoculées par voie intra-dermique. Après sacrifice de l'animal, les formes amastigotes sont recherchées dans la moelle osseuse, la rate et le foie sur des coupes colorées au Giemsa. Les formes promastigotes sont recherchées dans le sang circulant et les tissus par mise en culture. Le titre en anticorps anti-*leishmania* est mesuré par immunofluorescence indirecte.

Suite à l'inoculation d'amastigotes de *Leishmania donovani* par voie intraveineuse (étude sur 8 semaines) : pendant les 8 premières semaines, les parasites sont

détectés dans le foie, la rate et la moelle osseuse. Les cultures sur sang sont positives jusqu'à la 2^e semaine puis sont négatives. Le taux en anticorps s'élève de façon significative dès la 1^{ère} semaine (de 1/16-1/64 à 1/256-1/512 à 8 semaines post-infection).

Suite à l'inoculation d'amastigotes de *Leishmania chagasi* par voie intraveineuse (étude sur 24 semaines) : les parasites sont détectés dans le foie, la rate, et la moelle osseuse à partir de la 4^e semaine et jusqu'à la 16^e semaine dans la rate. A partir de la 24^e semaine, aucun parasite n'est décelé. Les cultures de sang restent négatives. Les taux en anticorps s'élèvent de 1/16-1/32 à 1/256-1/1024 à la 24^e semaine post-infection.

Suite à l'inoculation de promastigotes de *Leishmania chagasi* sur 6 chats adultes par voie intradermique (étude sur 24 semaines) : aucun parasite n'est retrouvé dans le foie, la rate, la moelle osseuse et le sang. Les taux en anticorps s'élèvent de façon significative de 1/16-1/64 à 1/128-1/512 au terme de 24 semaines.

Suite à l'inoculation de promastigotes de *Leishmania chagasi* à 3 chatons par voie intradermique (étude sur 12 semaines) : les chatons sont infectés avec des promastigotes provenant de cultures de tissu splénique des chats infectés par voie intraveineuse. Aucun parasite n'est retrouvé dans le foie, la rate, la moelle osseuse et le sang au terme de 12 semaines. Le dosage des anticorps n'est pas réalisé.

Au cours de ces expériences, aucun chat ne développe de signes généraux (absence de fièvre, amaigrissement, variation de l'hémogramme ou du taux de protéines). Seuls les chats infectés par voie intradermique présentent un nodule 24 heures après inoculation disparaissant au 4^e jour, de même qu'un érythème passager.

Les auteurs déduisent de ces observations que :

- Les chats domestiques sont moins sensibles à l'infection par *L. donovani* ou *L. chagasi* lors d'une inoculation intraveineuse que les hamsters, les chiens et certaines espèces de souris.
- Il semblerait que le chat soit plus sensible à l'infection que certains mammifères, tels que les rats ou les lapins de laboratoire. Cependant, 02 espèces seulement de leishmanies ayant été testées. L'existence de souches

plus virulentes chez le chat est suggérée.

- Les chats sont capables d'une réponse aux infections par *Leishmania* en produisant des quantités d'anticorps relativement élevées et détectables par immunofluorescence indirecte, et ce quelle que soit la voie d'inoculation.
- La recherche de parasites après inoculation est négative au bout de quelques semaines.

L'expérience de Simoes-Mattos [30], consiste en l'inoculation intradermique de formes promastigotes de *L. braziliensis* sur la truffe et les oreilles de 13 chats âgés de 3-4 mois environ. Un suivi est réalisé sur 72 semaines. Des lésions cutanées sont observées, sous forme de nodules et d'ulcères. Environ 40% des chats présentent une dissémination cutanée sur d'autres sites. 4 chats sont successivement euthanasiés au cours de l'expérience et aucun signe de dissémination viscérale n'est mis en évidence par examen histologique (absence de leishmanies dans la moelle osseuse, la rate et le foie visibles). Cette expérience suggère donc que le parasite n'affecterait que le territoire cutané chez le chat.

D'après la définition initiale de la sensibilité, est considéré comme sensible l'animal qui est apte à exprimer cliniquement la maladie due à l'agent pathogène.

Un animal résistant à la leishmaniose présente, suite à l'inoculation de *Leishmania*, une infection qui reste localisée à la peau. Il est généralement séronégatif ou faiblement séropositif. Chez l'animal dit sensible, le parasite se dissémine et s'étend aux nœuds lymphatiques, à la rate et à la moelle osseuse. Les anticorps produits ne jouent qu'un rôle protecteur mineur voire aucun rôle [31]. Lors de l'inoculation expérimentale réalisée par Simoes-Mattos [30], une infection cutanée est observée, sans signe de dissémination viscérale.

Il existe une disparité entre les formes de leishmaniose féline observées : dans les cas où une dissémination est recherchée, on remarque que parfois les leishmanies sont cantonnées au territoire cutané (et éventuellement au nœud lymphatique satellite) (Mac Hattie *et al.*, 1931 cités par [17] ; [16], tandis que dans d'autres cas, les leishmanies sont disséminées dans la rate, le foie, et/ou la moelle osseuse [42] ; [20]; [50]; [51] ; [52]; [53]; [24].

Ainsi, la rareté apparente des chats cliniquement atteints de leishmaniose, l'expérience d'inoculation de Simoes-Mattos [30] , et l'existence de cas d'infection limitées à la peau, suggèrent que le chat serait naturellement résistant

à la maladie. Cependant, la leishmaniose féline étant méconnue des vétérinaires praticiens, la maladie serait peut-être sous voire non diagnostiquée. De plus, dans un nombre important des cas cliniques décrits (23 des 35 cliniques publiés et répertoriés), la dissémination viscérale du parasite n'a pas été recherchée.

Des formes disséminées sont observées, ce qui laisse supposer qu'il existe des facteurs rendant des individus sensibles à la maladie.

Gramiccia et Gradoni [54] supposent que dans les zones d'endémie de Leishmaniose, le chat peut être un hôte-réservoir, plus qu'un simple hôte accidentel à cause :

1. Du haut pourcentage de parasitémie chez le chat (25.7%) associée à une séropositivité de l'ordre de 60%. Combinant ces 2 données, 70.6% de la population féline est ou pourrait être infectées par *L. infantum*.
2. Les chats sont infectés durant plusieurs mois jusqu'à leur guérison spontanée ou sont guéris par un traitement spécifique [50] ou morts [22].
3. Durant l'infection, le chat peut être piqué par un Phlébotome, comme cela a été démontré par plusieurs études [55], et ils deviennent infectieux pour des vecteurs compétents [49].

En bilan, les femelles pourraient être plus sensibles que les mâles et les adultes plus sensibles que les jeunes. Le séjour en zone de forte endémie reste un facteur important. Aucun facteur immunodépresseur systématique n'a pu être mis en évidence.

La répartition géographique de la leishmaniose féline est vaste. Le statut du chat en tant que réservoir ne peut être défini pour l'instant. Serait-il réservoir accidentel ? Accessoire ? Paraissant capable de transmettre les leishmanies aux phlébotomes (au moins après infection expérimentale), son importance en tant que réservoir dépendrait de sa réceptivité. Or, le chat peut être réceptif puisque des cas ont été observés, mais les facteurs de réceptivité et l'existence d'une circulation significative des parasites au sein de la population féline sont méconnus. En effet, les prévalences PCR et sérologiques laissent supposer une circulation conséquente des leishmanies chez les chats en zones d'endémie, mais ces méthodes ne sont que le témoin de contacts entre le chat et le parasite, et ne prouvent pas l'existence d'un portage significatif. Cet aspect est important en matière de santé publique compte tenu du caractère zoonosique de la maladie.

Le chat est aussi victime de la leishmaniose : les cas rapportés sont rares mais la maladie reste peu connue des vétérinaires praticiens, les symptômes sont peu spécifiques, et aucun facteur de sensibilité n'a été encore mis en évidence. Il serait donc possible qu'elle soit largement sous diagnostiquée.

Chapitre 3 : Etude clinique

On distingue en général différentes formes de leishmaniose : la leishmaniose cutanée et viscérale (chez le chien et chez l'homme), et la leishmaniose cutanéomuqueuse (chez l'homme). Ils existent des formes atypiques.

3-1-Symptomatologie et traitement chez l'homme

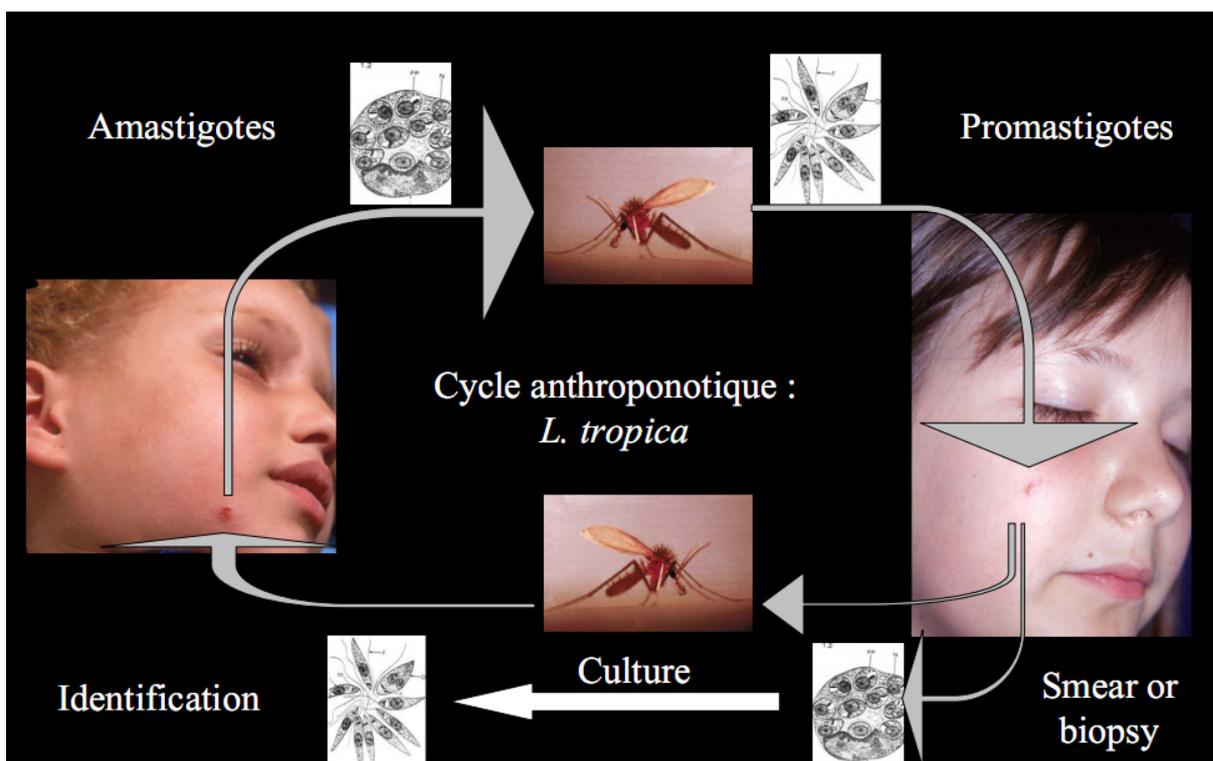


Figure 3.1- Cycle anthroponotique chez l'homme (*L. tropica*) [56]

3-1-1- Symptômes

- Cutanés :

Sous forme de granulomes localisé ou diffus [56]

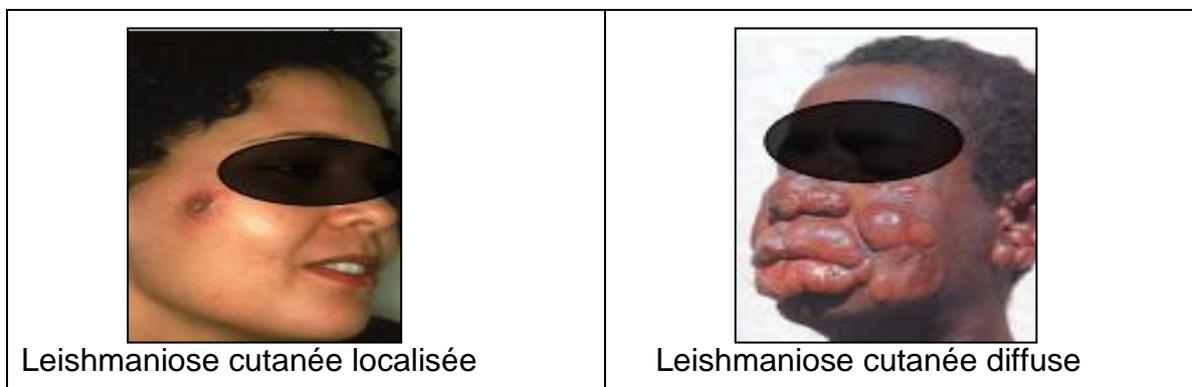


Figure 3.2 : symptômes chez l'homme

- Généraux :

- Fièvre
- Asthénie
- Rate palpable
- Thrombopénie
- Splénomégalie
- Hémorragies des muqueuses
- Toux
- Ictère

3-1-2- Diagnostic de confirmation

- frottis de peau (MGG) positif (amastigotes)
- PCR positive (sang)
- sérologie positive
- IDR négative

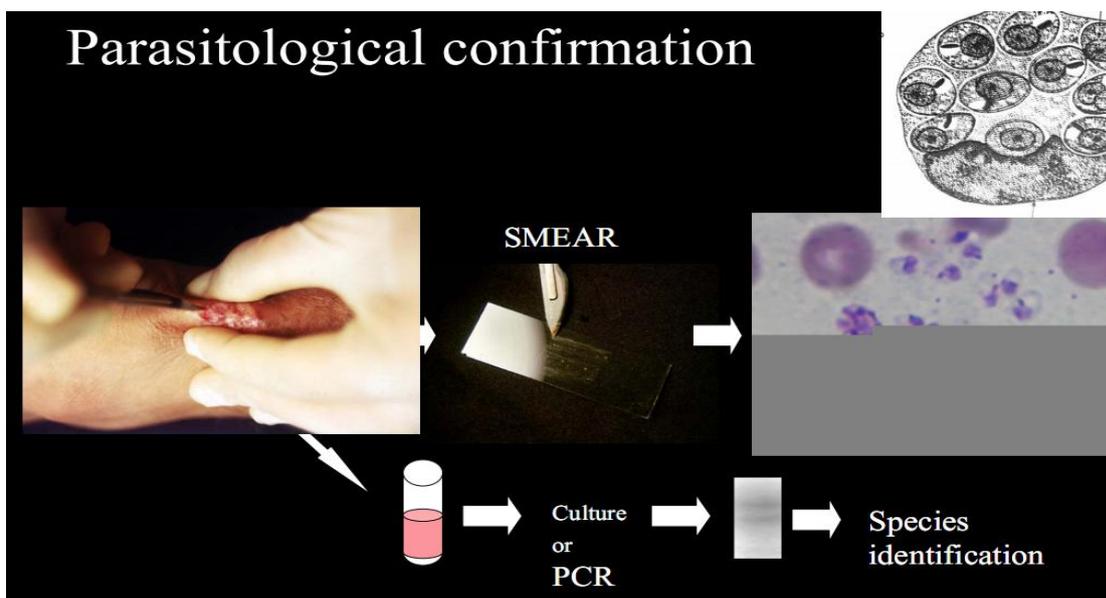


Figure 3.3 - Diagnostic parasitologique de confirmation [56]

3-1-3-Traitement

- Pentamidine : 4mg/Kg x 10 / 17 jrs
- Glucantime
- Amphotéricine B (Fungizone N.D) 0,5 mg/Kg / 14jrs
- Amphotéricine B liposomale (AmBisome) 3mg/Kg J1- J5 et J10 18mg/Kg J1 et J10

Il faut souligner que l'AmBisome est l'une des dernières molécules sur le marché sans effets secondaires par rapport à l'Amphotéricine B.

3-2-Symptômes et lésions chez le chien

La clinique associe les différents symptômes décrits par la suite, sachant que toutes les associations sont possibles.

3-2-1-Symptômes généraux [57] ; [58] ; [59] ; [61] On observe fréquemment :

- Amaigrissement intéressant plus particulièrement les muscles temporaux, et pouvant aller jusqu'à la cachexie.

- Abattement, qui peut aller en fin d'évolution jusqu'à la prostration.

On peut également observer :

- Hyperthermie, mais celle-ci est transitoire et modérée (39 à 39,5°C).

- Anémie, pouvant être arégénérative (due à l'envahissement de la moelle osseuse par les leishmanies) et étant à l'origine de l'abattement.



Figure 3.4 : Aspect général de chiens atteints de leishmaniose (Didier Pin)

3-2-2-Lésions cutané-muqueuses

On peut observer : [59] ; [60] ; [57].

- Dépilation pouvant aller jusqu'à l'alopecie, sur les faces latérales de la tête et du tronc.

- Hypopigmentation au niveau de la truffe.

- Chancre d'inoculation, inconstant et fugace, siégeant au niveau de la face ou sur la face interne des pavillons auriculaires.

Des modifications de l'épiderme : hyperkératose (au niveau du chanfrein, de la truffe et des coussinets plantaires), parakératose à l'origine du furfur leishmanien (squames de grande taille, sur la totalité ou une partie du corps de l'animal).

- Une onychogryphose (hypertrophie irrégulière des griffes).

- Ulcères



Figure 3.5 : Ulcères cutanés (ENVL).

- Cutanés, situés sur tout le corps mais apparaissant préférentiellement en regard des articulations et autres points de pression, des régions interdigitales et de la truffe ; non douloureux et prurigineux mais qui cicatrisent mal.
- Muqueux, qui saignent facilement et sont à l'origine entre autres d'épistaxis, d'hémorragies digestives.
- Granulomes multiples cutanés ou sous-cutanés, dont la taille peut augmenter rapidement de manière importante (de quelques millimètres à plusieurs centimètres), non adhérents, généralement indolores et non prurigineux. Ces nodules sont rarement observés, et ce type de lésion semble intéresser tout particulièrement les chiens de race Boxer, Teckel à poils durs ou encore Bullmastiff [61].
- Lésions intéressant le système des phagocytes mononucléés

On peut observer :

- Adénomégalie souvent multiple, intéressant essentiellement les nœuds lymphatiques superficiels, qui sont indolores et non adhérents au plan profond.
- Splénomégalie modérée.

- Envahissement de la moelle osseuse par des parasites.

3-2-3-Lésions oculaires

Les symptômes oculaires pouvant être observés sont [62]:

- Une uvéite souvent antérieure et non granulomateuse, liée à de la photophobie, et pouvant dans le plus grave des cas se compliquer en glaucome.
- Une conjonctivite bilatérale, avec une hyperhémie, pouvant être mucopurulente, parfois un chémosis ou des granulomes localisés au bord libre des paupières (leishmaniomes).
- Une kératite superficielle, stromale ou endothéliale mais rarement isolée, s'associant souvent à une uvéite (kérato-uvéite).

3-2-4-Symptômes intéressant l'appareil urinaire

Les symptômes concernant l'appareil urinaire sont :

- Une polyuro-polydipsie.
- Une insuffisance rénale causée par une glomerulonephrite quasiment constante[63]

3-2-5-Symptômes digestifs

Les symptômes digestifs observés peuvent être :

- Une entérite diarrhéique plus ou moins hémorragique (en fonction du nombre et de la localisation des ulcères digestifs).
- Une colite chronique [64]

3-2-6-Lésions ostéo-articulaires

On peut observer :

- Une polyarthrite souvent bilatérale, à l'origine d'une boiterie. Les atteintes osseuses et articulaires peuvent être de grande importance (ostéolyse pouvant aller jusqu'à la disparition des surfaces articulaires) [65].
- Une synovite ainsi qu'un 3ème des articulations.

3-2-7-Modifications sanguines

-Modifications humorales

On observe une dysprotéinémie liée à une hypergammaglobulinémie et une hypoalbuminémie.

-Modifications cellulaires

On peut observer :

-Une anémie normochrome, initialement régénérative puis devenant arégénérative à la faveur de l'envahissement de la moelle osseuse par les leishmanies. Celle-ci peut être aggravée par les différentes hémorragies et la thrombocytopénie.

-Une thrombocytopénie.

-Une leucocytose puis une leucopénie (liée à l'envahissement de la moelle osseuse).

-Une monocytose.

Certains des symptômes décrits précédemment sont à relier avec la présence en grande quantité d'immuns complexes dans l'organisme (l'uvéite, la glomérulonéphrite, les arthropathies).

3-2-8-Lésions atypiques

On peut ainsi noter des cas d'atteinte de la sphère génitale [66] , des cas de méningite [67].

3-3-Symptômes chez le chat

Ces distinctions semblent beaucoup moins nettes dans l'espece féline. Sur 35 des cas référencés dans le monde, 16 chats présentent des signes cutanés seuls, 12 des signes cutanés associés à des signes généraux dont 3 avec des signes oculaires, et 2 chats présentent des signes généraux seuls. Dans 10 cas, des affections intercurrentes sont diagnostiquées.

Lors d'une étude expérimentale [30], des chats ont été infectés par des leishmanies et des signes cliniques ont pu être observés. L'expérience est menée sur 13 jeunes chats (âgés d'environ 3-4 mois). Ces chats sont en bon état général, ils sont vermifugés, vaccinés contre la panleucopénie, la rhinotrachéite, les calicivirus et la rage. Ils sont placés en quarantaine 30 jours afin de surveiller l'éventuelle présence du virus FeLV. Tous s'avèrent négatifs. Ces chats sont anesthésiés, infectés par 10^7 leishmanies promastigotes (*L. braziliensis*) inoculées par voie intradermique, sur l'oreille droite et la truffe simultanément. Un chat de l'échantillon n'a pas été infecté sur la truffe en raison

d'une petite croûte. Trois hamsters sont infectés sur le pied gauche sous anesthésie pour contrôler l'infection. Un suivi est réalisé sur 72 semaines après l'infection, et 4 chats sont successivement euthanasiés, aux semaines 4, 12, 16 et 24 après l'infection. Des échantillons de rate, de foie et de moelle osseuse sont alors obtenus. Les anticorps sont régulièrement titrés par ELISA, la taille des lésions est mesurée une fois par semaine.

Tous les chats développent un nodule au point d'inoculation. L'évolution des lésions sur les oreilles et le nez est présentée dans le Tableau 4.

Tableau 3-1: *Evolution des lésions sur des chats infectés expérimentalement avec Leishmania braziliensis.* [30].

Lesions	Oreille	(%) Nez
Papule	77	75
Nodule	100	100
Lésions satellites	83,3 ^e	45,5 ¹
Lesion étendue	91'	9,1'
Dissémination'	42,6 ^e	8,3'
Infiltration muqueuse	-	88,9 ^g 33,3 ^f
Ulcération	25 ^e	
Guérison	87,5 ^h	100'

L'apparition d'une papule, suivie par l'émergence de papules satellites, est observée. Ces papules convergent en un nodule principal irrégulier.

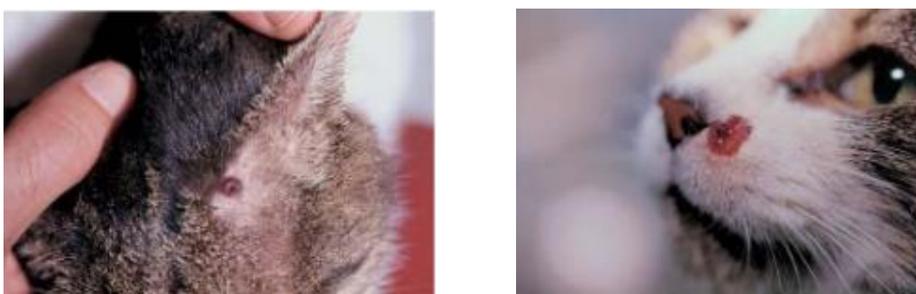


Figure 3.6 : Chancre d'inoculation, ulcère [68]

Les signes cliniques observés dans les 35 cas référencés et infectés naturellement, on distingue plusieurs groupes de lésions :

3-3-1-Lésions cutanées

33 cas présentent des signes cutanés, soit 94% des cas de leishmaniose féline décrits. Ces lésions s'observent principalement au niveau de la tête (23 cas sur 33 présentant des signes cutanés, soit 69 %) : sur la truffe, les pavillons auriculaires, la face, le canthus médial de l'œil et les paupières, ainsi que dans

la cavité buccale et sur les lèvres. Certains cas montrent des lésions sur les membres : au niveau du coude, du tarse et des espaces interdigités. Des lésions diffuses sont parfois notées, soit sur l'ensemble du corps, soit sur des zones plus circonscrites (thorax, abdomen, région lombaire). Enfin, des lésions sont observées au niveau de la queue dans un cas.

Tableau 3.2 : Nombre de cas observés en fonction des différents sites lésionnels.

Localisation	Cas observés	Cas avec signes	Cas décrits
Truffe	14	42 %	40 %
Oreilles	12	36 %	34 %
Tête (chanfrein, région temporo- mandibulaire, crane,	9	27 %	26 %
Région péri-oculaire	6	18 %	17 %
Région buccale	6	18 %	17 %
Membres	5	15 %	14 %
Lésions diffuses sur le corps	4	12 %	11 %
Région lombaire	3	9 %	8 %
Thorax	2	6 %	5
Abdomen	1	3 %	2 %

Différents types de lésions sont observées et varient aussi en fonction de la localisation.

Les principales lésions observées sont des ulcères, des nodules hémorragiques ou ulcères principalement localisés sur la face (23 cas, soit 69 % des cas présentant des signes cutanés). Moins caractéristiques, les papules et pustules peuvent être notées. Les chats leishmaniens présentent fréquemment des dermatites ulcérales ou alopeciques, localisées ou diffuses. Des lésions buccales sont parfois associées et dans un cas, elles constituent les seuls symptômes.

Tableau 3.3 : Types lésionnels rencontrés lors de leishmaniose féline.

Types de lésion	Cas observés	Cas avec des signes	Cas (décrits)
Ulcères	16	48 %	46 %
Nodules	16	48 %	46 %
Papules, pustules,	7	21 %	20 %
Alopecie, Dépilations	6	18 %	17 %
Stomatite, gingivite	5	15 %	14 %
Erythème	2	6 %	5 %
Squamosis	2	6 %	5 %
Dermatite miliaire	1	3 %	2 %
Effluvium telogène	1	3 %	2 %

De l'érythème peut être noté. De rares cas de squamosis, d'alopécie extensive et de dermatite miliaire sont rapportés. Toutefois ces lésions peuvent être dues à d'autres affections concomitantes (parasitaires ou allergiques). Ainsi, des nodules (hémorragiques ou non) et des plaies ulcérées, surtout lorsqu'ils sont localisés à la face, constituent des signes d'appel de la leishmaniose féline.

De manière *générale*, la leishmaniose devrait faire partie du diagnostic différentiel chez un chat provenant d'une zone d'endémie, et présentant des lésions nodulaires ou ulcératives sur la face, ou des signes cutanés réfractaires aux traitements habituels.

3-3-2-Signes oculaires

Des signes oculaires sont observés chez 6 chats (17 % des cas de leishmaniose féline). Il s'agit principalement d'uveïtes, uni ou bilatérales pouvant être associées à une kératite ou à une chorioretinite.

-Signes généraux

La leishmaniose féline peut se manifester par des signes généraux, seuls ou associés aux symptômes étudiés précédemment. 20 des 35 cas répertoriés présentent des signes généraux (57 %) (Tableau 9).

Aucun signe n'est spécifique et le tableau est très protéiforme. Cependant, en général, ces signes généraux sont associés à d'autres symptômes (94 % des cas). De plus, certaines de ces manifestations peuvent être imputées à une infection intercurrente présentée par le chat, comme la détresse respiratoire lors de bronchite parasitaire ou de bronchopneumonie.

On retient la fréquence de l'adénomégalie (29 % des cas de leishmaniose féline), qui peut être généralisée (6 cas sur 10 présentant une adénomégalie) ou localisée (en particulier sur les noeuds lymphatiques poplités et rétromandibulaires).

Tableau 3.4 : Tableau récapitulatif des signes généraux rencontrés dans les cas de leishmaniose feline.

Signes généraux	Cas	Cas avec signes	Leishmaniose
Cachexie/Amaigrissement	11	55 %	31 %
Adénomégalie	10	50 %	29 %
Abattement	5	25 %	14 %
Anorexie/Dysorexie	5	25 %	14 %
Détresse respiratoire	4	20 %	11 %
Mort brutale	4	20 %	11 %
Hyperthermie	3	15 %	8 %
Vomissements/Diarrhées	3	15 %	8 %
Deshydratation	2	10 %	5 %
Paleur des muqueuses	2	10 %	5 %
Hépatomégalie	2	5 %	10 %
Splénomégalie	1	5 %	2 %
Ictère	1	5 %	2 %

En bilan, un tableau clinique cutané avec des ulcères et des nodules, principalement localisés sur la face et plus ou moins associés à une adénomégalie, chez un chat provenant d'une zone d'endémie, constitue un signe d'appel de leishmaniose feline (66% des cas observés). Toutefois, on peut noter la diversité des signes présentés par les différents cas étudiés et le tableau clinique de la leishmaniose reste très protéiforme. Le faible nombre de cas observés et la rare identification des espèces de leishmanies en cause ne permettent pas aujourd'hui de corréler certains signes cliniques à une espèce particulière de leishmanie.

Chapitre 4 : Diagnostic

La démarche diagnostique lors de la leishmaniose, passe par différentes étapes, à savoir :

4-1-Diagnostic biologique

4-1-1- Méthodes non spécifiques

- Examens hématologiques

La leishmaniose peut entraîner des modifications de l'hémogramme, comme citées précédemment ; elles ne sont pas toujours observées mais on peut parfois noter [69] ; [70].

- Anémie arégénérative normochrome normocytaire et/ou une thrombocytopénie
- Leucocytose avec granulocytose en début de maladie
- Leucopénie plus tardive
- Monocytose (fréquemment)
- Troubles de la coagulation: le temps de saignement et de coagulation est augmenté.

- Examens biochimiques

Les protéines totales sont souvent augmentées : en général leur taux est supérieur à 80 g/L. Leur électrophorèse met en évidence un pic bêta-gamma (figure 4.1). Une hyperglobulinémie est présente associée à une hypoalbuminémie dans plus de 90 % des cas. Le rapport albumine sur globuline peut être un paramètre intéressant dans le cadre du suivi thérapeutique, car il augmente progressivement.

Les paramètres rénaux peuvent également être affectés. Ils sont à évaluer et à suivre en cours de traitement car les molécules utilisées sont néphrotoxiques [69] ; [70].

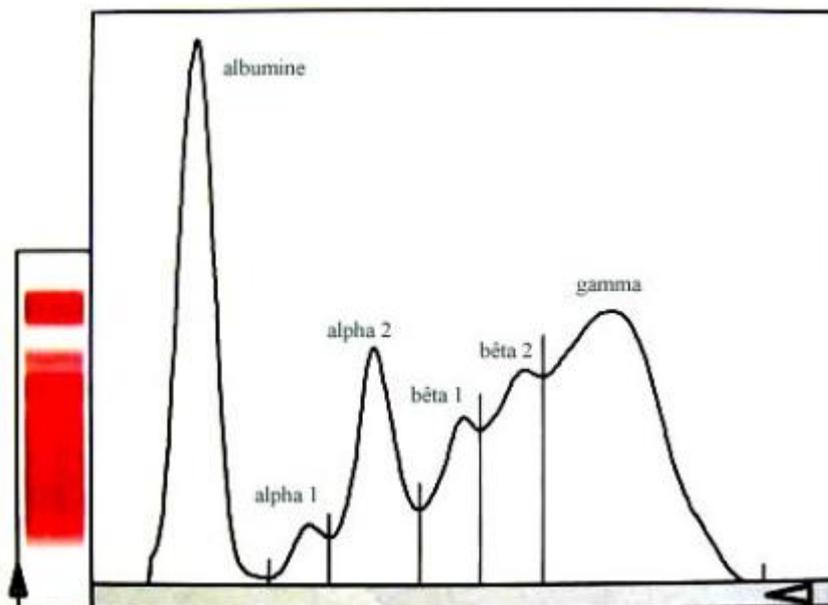


Figure 4.1 : Electrophorèse des protéines sériques d'un chien leishmanien (Lubas)

Formoleuco-gélification :

Il s'agit d'un test qui traduit la forte concentration du sérum en protéines (dont les globulines) en les faisant précipiter sous forme visible en ajoutant quelques gouttes de formol au sérum. La prise en masse et l'opalescence traduisent cette hyperglobulinémie (Papierok, 2002).

4-1-2- Méthodes spécifiques

- Mise en évidence du parasite

C'est la seule façon d'obtenir un diagnostic de certitude. Les prélèvements possibles pour la réaliser sont [69] :

- Ponction de moelle osseuse (premières sternèbres, jonction chondro-costale) ou de noeud lymphatique ;
- Ponction d'un nodule cutané à l'aiguille fine ;
- Frottis conjonctival ;
- Prélèvement de lymphes dermiques par test du copeau cutané ;
- Calque cutané d'une lésion ulcéreuse ;
- Biopsie cutanée pour réaliser une histologie.

Une fois le prélèvement effectué, quatre techniques permettent de mettre en évidence le parasite :

- Microscopie

Les parasites intra-monocytaires sont recherchés par la technique de May-Grümwald-Giemsa (coloration) de calques cutanés, d'adénogrammes ou de myélogrammes. Cette méthode est réalisable au cabinet par le vétérinaire praticien un peu expérimenté et permet en cas de mise en évidence du parasite de confirmer très simplement et rapidement le diagnostic. Malheureusement sa sensibilité est faible (60 %) [69].

Il convient de privilégier, en cas d'adénomégalie, la ponction de ganglion, et, en l'absence d'adénomégalie, de réaliser une ponction de moelle osseuse. La sensibilité décroît ensuite si l'observation se fait à partir d'une ponction d'un nodule cutané à l'aiguille fine, d'un frottis conjonctival, d'une biopsie cutanée.

La probabilité d'observer les leishmanies est plus importante en début d'évolution de la maladie, la charge parasitaire étant en effet plus élevée car la multiplication est plus intense, elle est ensuite limitée du fait de la réponse immunitaire de l'organisme [71]

- Culture du parasite

Le parasite est cultivé dans le milieu de Nicolle-Novy-Mac Neal à partir d'un prélèvement. C'est la méthode de référence, mais elle nécessite quelques semaines d'incubation. Elle n'est réalisée que par les laboratoires de recherche [69].

- PCR

La Polymerase Chain Reaction (PCR) est la plus sensible des trois techniques : sa sensibilité est de 97 %. Elle met en évidence l'ADN de *Leishmania*, même présent en faible quantité, dans les ponctions ganglionnaires ou de moelle. C'est la technique de choix pour l'établissement de la parasitémie. Elle nécessite des équipements sophistiqués et est très sensible aux contaminations, elle est donc réalisée uniquement dans des laboratoires spécialisés. Il est important de noter que 80 % des chiens asymptomatiques vivant en zone d'enzootie peuvent présenter de l'ADN de *Leishmania* dans la peau et les muqueuses mais seulement 10 % dans les ganglions [69].

L'inconvénient de cette technique est qu'elle ne fait pas la différence entre les leishmanies vivantes et l'ADN leishmanien résiduel ; il est donc préférable de l'utiliser pour confirmer le diagnostic et non dans le cadre d'un suivi thérapeutique [71].

- Techniques d'immunomarquage

Cette technique peut être utilisée lorsque l'histopathologiste n'a pas mis en évidence de parasites malgré la forte suspicion de leishmaniose. Leur but est de révéler la présence d'antigènes présents dans le prélèvement. Il existe plusieurs méthodes [72].

- Méthodes sérologiques

Elles mettent en évidence et quantifient la présence d'anticorps canins spécifiques de *Leishmania infantum* chez le sujet. Elles ne permettent pas d'établir un diagnostic de certitude mais uniquement de révéler que l'animal a déjà été exposé au parasite (mais des leishmanies sont en général toujours présentes). Un animal en début de contamination ou ayant une immunité cellulaire solide peut se révéler faussement négatif. Un résultat positif correspond à un animal ayant rencontré le parasite et qui a élaboré des anticorps spécifiques, il peut être en début de maladie ou être en état d'immunité acquise et être asymptomatique [69].

Nous évoquerons dans une prochaine partie l'intérêt du suivi sérologique pour apprécier une baisse du taux d'anticorps lors d'une réponse thérapeutique favorable.

- Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte, ou IFI, est la méthode quantitative de référence agréée par l'Office International des Épidémiologies (O.I.E). Elle est effectuée en utilisant des formes promastigotes de culture comme antigène. Le seuil de positivité est habituellement fixé à 1/100 (ou 1/80). C'est une méthode considérée comme sensible et spécifique. La sensibilité varie entre 92 et 99 % [69] ; [70]

Principe de la technique IFI : [77]

Différentes étapes de la réalisation d'une technique d'immunofluorescence indirecte :

- Fixation de l'antigène sur la lame (certaines lames sont commercialisées avec l'antigène déjà fixé)
- Dépôt du sérum du patient et incubation
- Lavage
- Ajout des anticorps anti-immunoglobulines humaines marqués par le fluorochrome
- Lavage
- Lecture à l'aide d'un microscope à fluorescence

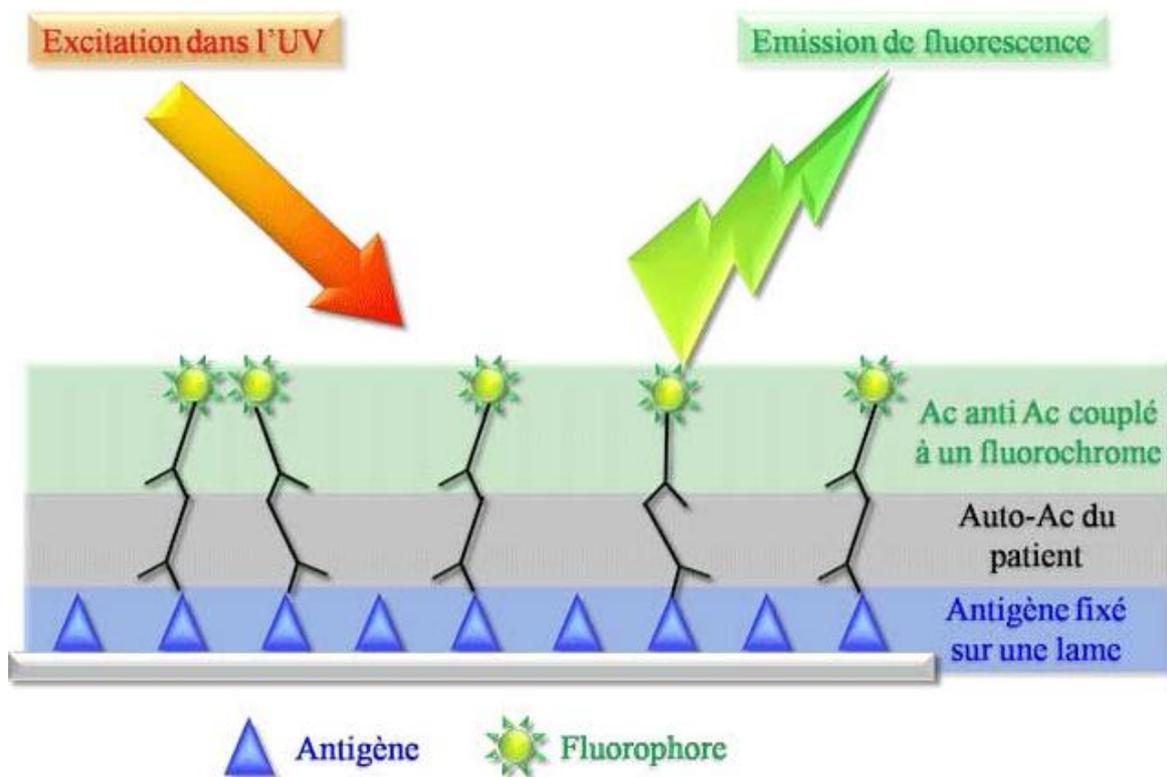


Figure 4.2 : technique IFI [77].

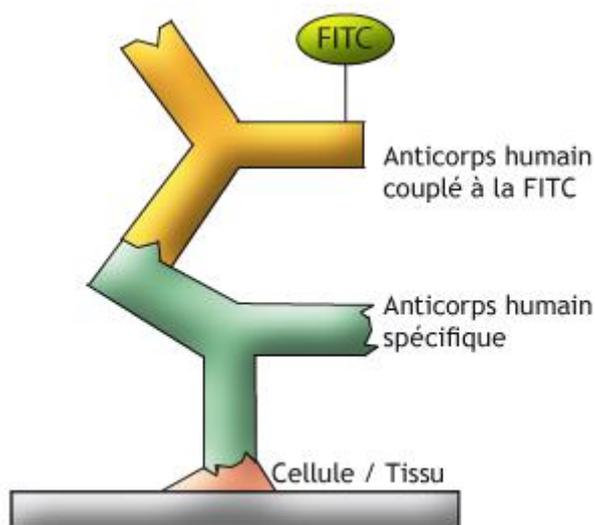


Figure 4.3 : Principe du test IFI [77].

Des cellules infectées ou non, des tissus ou des substances purifiées, biochimiquement caractérisés, sont utilisés comme substrats antigéniques.

> Si l'échantillon est positif, les anticorps spécifiques présents dans l'échantillon de sérum dilué se lient aux antigènes fixés à la phase solide.

> Dans une seconde étape, les anticorps liés sont détectés avec des anticorps anti-humain couplés à la fluorescéine et analysés avec un microscope à fluorescence.

> Les échantillons positifs peuvent être titrés en plusieurs étapes de dilutions. L'intervalle de titration le plus adapté est obtenu avec le facteur de dilution 3.162 (racine carrée de 10). De cette manière, toute seconde étape de dilution représente dans son dénominateur une puissance de 10 (1:10, 1:32, 1:100, 1:320, 1:1000, 1:3200, 1:10000 etc.). D'autres méthodes de dilutions peuvent également être utilisées (1 :80 ; 1 :160,...)

-ELISA

La technique ELISA est une méthode quantitative qui est préférentiellement utilisée par les épidémiologistes car elle a comme propriété d'être automatisable. Elle est au moins aussi sensible que l'IFI, et sa lecture est moins subjective car elle est réalisée par un spectrophotomètre [69].

-Techniques d'agglutination

Ce sont des techniques semi-quantitatives. Il est possible de réaliser une agglutination ou une hémagglutination. Elles sont peu utilisées mais elles permettent de mettre en évidence une affection précoce chez des chiens primo-infectés car elles détectent les IgM.

Leur sensibilité est de 95 % et leur spécificité de 94 % [69] ; [71].

-Western Blot

C'est une méthode qualitative mais elle est très sensible et très spécifique. Elle est pour cela considérée comme la méthode de confirmation en sérologie. Elle permet de détecter les anticorps spécifiques d'antigènes de *Leishmania infantum* préalablement séparés par électrophorèse [69].

En pratique, il est essentiel de choisir les analyses les plus intéressantes en fonction de:

- Utilisation que l'on veut faire du test : diagnostic de la maladie ou enquête épidémiologique ;
- Zone d'exercice : en zone d'endémie il est important de choisir des méthodes très sensibles pour éviter les faux négatifs ;
- Coût de réalisation,
- Stade de la maladie : la PCR permet une détection plus précoce que l'apparition des anticorps et induit moins de faux négatifs [72].

Les divers examens spécifiques peuvent être utilisés selon deux objectifs :

- si l'on souhaite confirmer une suspicion clinique (notamment en zone d'enzootie) il faut tenter une observation directe au microscope à partir de calques cutanés, d'adénogramme ou de myélogramme. Si des éléments parasites sont présents, le diagnostic est posé. Si le parasite n'a pas été isolé, il faut effectuer une

sérologie à partir de sang prélevé sur tube sec il est préférable d'associer deux tests (ELISA et IFI). Si ces analyses sont négatives mais que la suspicion clinique demeure, il faut envisager une PCR réalisée sur un prélèvement de nœud lymphatique ou, à défaut, de sang.

- si l'on souhaite contrôler un animal ne présentant pas de symptômes, il faut faire un contrôle sérologique environ 2 mois après la période de contamination, ou une PCR très sensible à la fin de la saison de contamination [70].

Les méthodes sérologiques de diagnostic reflètent l'installation d'une réponse immunitaire suite à l'infection par les leishmanies. Cette réponse immunitaire est plus ou moins protectrice contre la maladie.

4-2-Chez le chat

4-2-1-Diagnostic épidémiologique-clinique

Comme nous l'avons vu précédemment, la leishmaniose devrait être envisagée en présence d'un chat provenant d'une zone d'endémie et présentant des lésions de type nodulaire ou ulcératif, en particulier lorsque celles-ci sont localisées à la face. Toutefois, compte tenu de la diversité des signes présentés par les cas décrits, et de leur manque de spécificité, le diagnostic de la leishmaniose féline repose sur les techniques de laboratoire.

4-2-2 - Diagnostic différentiel

- En présence de nodules [17]

Les principales dermatoses nodulaires chez le chat sont :

- Abscès sous-cutanés, résultant de bagarres ;
- Phaeohyphomycoses, infections par des champignons de la famille des Dematiacés ;
- Cryptococcose, mycose systémique la plus fréquente chez le chat, due à l'action pathogène de *Cryptococcus neoformans* ;
- Granulome et la Plaque éosinophiliques, qui sont des modalités réactionnelles de la peau du chat ayant des causes variées (Allergies, Infections parasitaires, Infections bactériennes, Agents chimiques, Corps étrangers, Facteurs génétiques)
- Tumeurs cutanées, qui sont fréquentes chez le chat, et souvent malignes (Carcinome épidermoïde, Carcinome des cellules basales, Fibrosarcome et Mastocytome représentent environ 70% des tumeurs cutanées du chat).

D'autres dermatoses rares ou exotiques ont également une présentation nodulaire

- Granulomes ou pyogranulomes à corps étranger ;
- Dracunculose, rarissime chez le chat ;
- Toxoplasmose systémique, avec des lésions nodulaires sur les membres ;
- Panstéatite féline, qui provoque des nodules multiples parfois associés à des signes généraux (variété de panniculite due à une carence en vitamine E) ;
- Syndrome granulome/pyogranulome stérile, qui se manifeste soit par des papules et des nodules érythémateux ou violacés, localisés à la tête ou aux pavillons auriculaires, soit par des plaques jaunâtres bien délimitées, sur les zones pré-auriculaires ;
- Xanthomatose (papules, plaques, nodules blanchâtres ou jaunâtres localisés sur la tête, extrémité des membres ou les proéminences osseuses).

- En présence d'ulcères [17]

Les principales dermatoses ulcérales observées chez le chat sont :

- Pyodermite profonde, souvent secondaire à un corps étranger ;
- Dermite ulcéraire associée au virus Herpes de type I. affectant le chat adulte ou âgé, provoquant des vésicules, des ulcères et des croûtes localisées à la face et à la truffe, une stomatite étant parfois présente ;
- Poxvirose, se traduisant d'abord par une lésion initiale sous forme d'une plaque ulcérée ou proliférative située sur la tête, le cou ou les membres antérieurs, puis par de multiples lésions secondaires parfois accompagnées de signes généraux;
- Allergies et l'intolérance alimentaire, qui peuvent se manifester sous forme d'une dermatite prurigineuse de la tête et du cou, caractérisées par des excoriations, des lésions ulcéraires et des croûtes;
- Ulcère labial atone, localisé à la lèvre supérieure;
- Pemphigus foliacé, dermatite auto-immune la plus rencontrée chez le chat;
- Pododermatite à plasmocytes;
- Carcinome épidermoïde, se présentant sous la forme d'un ulcère térébrant, surtout localisé sur l'extrémité des pavillons auriculaires ou la truffe, plus rarement sur les paupières ou les lèvres
- Carcinome des cellules basales;
- Troubles du comportement.
- Plus rarement, on rencontre les dermatoses ulcéraires suivantes:

- Brulures et gelures;
- Pyodermites profondes à mycobactéries, à *Nocardia sp.*, à *Actinomyces sp.* ;
- Péritonite infectieuse féline qui est rarement à l'origine d'ulcères;
- Anatrachosomose (nematodose rare);
- Candidose cutanée, les mycoses sous-cutanées et systémiques;
- Toxidermies
- Affections dysimmunitaires rares: Pemphigus vulgaire, Pemphigoïde bulleuse, Pemphigoïde des muqueuses, Lupus érythémateux systémique, Epidermolyse bulleuse;
- Syndrome de fragilité cutanée secondaire à un syndrome de Cushing, un diabète sucré, l'administration prolongée d'acétate de mégestrol, Atteinte hépatique.

Certaines des affections suscitées peuvent être présentes de façon concomitante à la leishmaniose, comme cela a pu être observé (Dermatite miliaire et complexe granulome éosinophilique sur un chat allergique, Abscès sous-cutanés, Pemphigus foliacé, Carcinome épidermoïde).

-En présence d'adénomégalie [73]

En présence d'adénomégalie, le diagnostic différentiel regroupe les infections bactériennes, les mycoses, la toxoplasmose, les infections par les rétrovirus felins, la péritonite infectieuse féline, les processus tumoraux et en particulier le lymphome. Ainsi, les symptômes de la leishmaniose féline sont très peu spécifiques et rappellent bon nombre d'autres affections. Le diagnostic fait donc appel à des méthodes de laboratoire.

4- 2-3 - Diagnostic de laboratoire

-Signes biologiques

Dans certains des cas publiés et répertoriés, les signes biologiques présentés par les chats leishmaniens sont rapportés.

Les anomalies hématologiques et biochimiques observées dans les cas de leishmaniose féline sont très diverses et inconstantes. Une neutrophilie et une éosinophilie sont parfois notées. Des anomalies sont par contre systématiquement trouvées lorsque le dosage et de l'électrophorèse des protéines sériques sont effectués. Il est rapporté: une hyperglobulinémie dans tous les cas, une augmentation fréquente des gammaglobulines et une hypoalbuminémie (inversion du rapport Albumine/Globuline).

Tableau 4.1 : Paramètres sanguins renseignés dans les cas publiés et repertoriés.

N° des cas Paramètres Sanguins	7	15	17	18	20	21 FIV+	22	24 FIV+ FeLV+	25	26	28 FIV+	29 FIV+	30	31	33	34
Anémie	+			-	-	+	-	-	-	-		+				
Leucocytes				↗	N		N	↗		N	↗	↘		↘	↘	N
Lymphocytes					N		N	N		N				↘	N	N
Neutrophiles					N		N	↗	↗	N	↗				↗	N
Monocytes					N			N								
Eosinophiles				↗	↗			N	↗	N						N
Thrombocytes												↘				N
Urée						↗	N	N	N	N						N
Créatinine					N	↗	N	N	N	N						N
PAL					N		N	N	N	N						N
ALAT					N		N	N	N	N						N
Protéines totales				↗	↗											
Albumine					↘								↘			
Globulines				↗		↗	↗	↗			↗		↗	↗		↗
α2-globulines											↗					
β-globulines					↗											
γ-globulines				↗	↗		↗				↗			N		↗
Rapport Alb/Glob								↘								

Alb = albuminémie Glob = globulinémie

4-2-4-Examens directs

Des cas de leishmaniose féline peuvent être découverts par des examens cytologiques ou histologiques.

- Examens cytologiques [74]

Afin de réaliser un examen cytologique, on effectue préalablement soit un calque par étalement d'un produit récolté par écouvillonnage, soit un calque par étalement d'un produit d'aspiration à l'aiguille fine. Le calque par écouvillonnage est utilisé pour les lésions cutanées anfractueuses, et le calque par aspiration à l'aiguille fine permet de ponctionner les nodules, les noeuds lymphatiques et la moelle osseuse. Des frottis de foie et de rate peuvent également être réalisés à partir de ponctions échoguidées. Le matériel collecté est étalé sur une lame de microscope dégraissée qui est ensuite séchée à l'air. Les lames ainsi obtenues sont colorées à l'aide d'un kit de coloration rapide, puis séchées et observées au microscope optique. L'observation des cellules et des leishmanies s'effectue avec l'objectif à immersion (x100) avec un éclairage suffisant et, avec le diaphragme ouvert.

La visualisation des leishmanies constitue un diagnostic de certitude.

-Examens histologiques

Les lésions cutanées peuvent être biopsiées en vue d'un examen histopathologique. Les biopsies sont effectuées soit par la technique « biopsy punch » sous anesthésie locale, soit par la technique chirurgicale en cote de melon sous anesthésie générale. On choisit autant de sites qu'il existe de lésions d'aspects macroscopiques différents, en évitant les zones remaniées, anciennes et/ou ayant subies des traitements topiques. Les prélèvements sont ensuite placés dans un fixateur et envoyés à un laboratoire d'anatomo-pathologie vétérinaire, accompagnés des commémoratifs [74].

En cas de leishmaniose, on observe des lésions histologiques sous forme d'une réaction inflammatoire granulomateuse, associées ou non à la présence de protozoaires.

Ils sont visibles dans les macrophages. Ces lésions ont été rapportées dans des cas de leishmanioses felines repertories [20] ; [19] ; [51]. L'observation de telles lésions en l'absence de parasite visible doit conduire à la réalisation d'autres examens complémentaires plus sensibles.

Des immunomarquages peuvent être effectués. Ils permettent la mise en évidence de leishmanies, non visibles en coloration classique.

- Mise en culture

La mise en culture est effectuée à partir de prélèvements de noeuds lymphatiques ou de moelle osseuse. L'échantillon est mélangé avec un milieu de culture puis mis à incuber pendant 7 jours. La culture est ensuite examinée au microscope. Cette technique n'est valable que dans le cas des leishmanioses disséminées.

La sensibilité de cette technique est souvent faible et variable, en relation avec [75] :

- Densité parasitaire faible diminue la sensibilité à l'examen microscopique
- Facteurs techniques influent également fortement sur la sensibilité : le milieu de culture utilisé, le rapport quantité ensemencée/nombre de tubes utilisés (Sensibilité augmente avec le nombre de tubes), le nombre de sites de ponction.

En cas de résultat négatif, on procède à une remise en culture de 7 jours, et ce pendant 4 semaines avant de poser une réponse définitive [42].

Après obtention de la culture, l'identification de l'espèce de leishmanies en cause

est possible, ce qui est utile dans le cadre des enquêtes épidémiologiques.

-Inoculation à des animaux de laboratoire

Plusieurs espèces sont utilisées pour la mise en évidence de leishmanies (cobaye, souris, rat, chien, hamster). L'inoculation s'effectue par voie sous-cutanée ou intrapéritonéale. L'animal est sacrifié après plusieurs mois. Les leishmanies sont alors recherchées.

L'inoculation ayant réussi plusieurs fois chez le hamster, il est aujourd'hui considéré comme une espèce de choix. Cette technique n'est utilisée que dans le cadre de la recherche compte tenu des délais d'incubation.

L'avantage de ces méthodes directes est l'obtention d'un diagnostic de certitude. Leur inconvénient majeur est leur manque de sensibilité.

4-2-5-Méthodes indirectes

Les méthodes indirectes permettent la mise en évidence soit des anticorps antileishmaniens produits en réponse à l'infection, soit de l'ADN du parasite.

- Sérologie

La technique de référence chez le chien est l'immunofluorescence indirecte qui présente une très bonne sensibilité. Il existe d'autres techniques : la méthode ELISA, le Western-blot ou l'électrosynérèse.

L'absence de réactions croisées leur confère une très bonne spécificité, excepté pour l'électrosynérèse : des arcs de précipitation peuvent se former en présence d'auto-anticorps ou d'hypergammaglobulinémie et donner des résultats faussement positifs. Les sensibilités de l'immunofluorescence et du Western-blot sont très bonnes. Celle de l'ELISA est plus faible, mais ce test permet de traiter rapidement de grandes quantités d'échantillons. Une quantité suffisante d'anticorps doit être en circulation pour être détectée. Aussi la sérologie peut ne présenter un résultat positif que plusieurs mois après l'infection [75].

Compte tenu du faible nombre de cas de leishmaniose diagnostiqués chez le chat, des obstacles vont à l'encontre de ces méthodes :

- Obtention de témoins positifs,
- Etablissement de valeurs seuils propres à l'espèce féline.

Des auteurs, à l'issue de certaines études, émettent des doutes quant à la fiabilité

des méthodes sérologiques conventionnelles dans la détection d'une infection active chez le chat. En 1984 d'abord, une inoculation d'amastigotes par voie intraveineuse de *L. dovani* et de *L. chagasi* est réalisée. Des leishmanies sont détectées dans le foie, la rate et la moelle osseuse dans les huit premières semaines après infection par *L. dovani*, tandis que le taux en anticorps s'élève de façon significative au bout de huit semaines. Les cultures de sang sont positives uniquement dans les deux premières semaines. Le même phénomène est observé après infection par *L. chagasi*, avec un délai de 16 semaines post-infection, mais aucune culture sur sang n'est positive. L'inoculation de formes promastigotes de *L. chagasi* par voie intradermique sur 6 chats entraîne l'augmentation significative du taux d'anticorps tandis qu'aucun parasite n'est retrouvé dans le sang, la moelle osseuse, la rate ou le foie [13]. Ces doutes quant à la valeur du dépistage sérologique sont renforcés par l'observation de Simoes-Mattos et *al.*, [30] lors de l'infection expérimentale de 13 chats par *L. braziliensis* : dans cette étude, la période durant laquelle les chats montrent des lésions actives recelant des parasites ne peut être détectée par les méthodes sérologiques habituelles. En effet, tandis que les lésions apparaissent dans les premières semaines post-infection et diminuent à partir de la 10^e semaine post-infection, le titre en anticorps n'augmente significativement qu'à partir de la 12^e semaine, et diminue à partir de la 32^e semaine. Lors d'une étude séro-épidémiologique menée en Sicile sur 203 chats errants (par immunofluorescence indirecte), 33 chats sont positifs. 11 de ces chats positifs sont de nouveau testés 2 à 6 mois plus tard, et 6 sont alors séronégatifs, tandis que l'ADN de *Leishmania infantum* est détecté par PCR dans les nœuds lymphatiques des 11 chats, mais pas sur le sang [76]. Enfin, dans l'enquête de Martin-Sanchez *et al.*, [41] sur 180 chats testés (immunofluorescence indirecte), 108 ont un titre supérieur ou égal à 1/10 et 51 (28,3 %) ont un titre supérieur ou égal à 1/40, alors que dans le lot ternois, 26 chats sur 28 ont un titre égal à 0 et 2 chats ont un titre égal à 1/20. Sur les 180 chats testés, seulement 11 présentent un seuil de positivité ordinaire pour la leishmaniose canine (titre en anticorps : 1/160) et 3 chats obtiennent des titres très élevés (1/640, 1/1280 et 1/5120), et parmi ces chats, un seul présentant un titre en anticorps de 1/160 donne un résultat positif à la PCR. De plus, la fréquence des PCR positives est la même pour le lot de chats présentant un titre inférieur ou égal à 1/20 que pour le lot ayant un titre

supérieur ou égal à 1/40

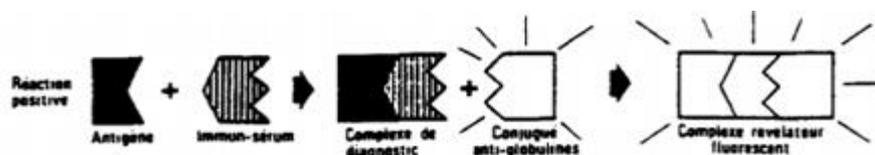


Figure4.4 : Réaction IFI positive [78]

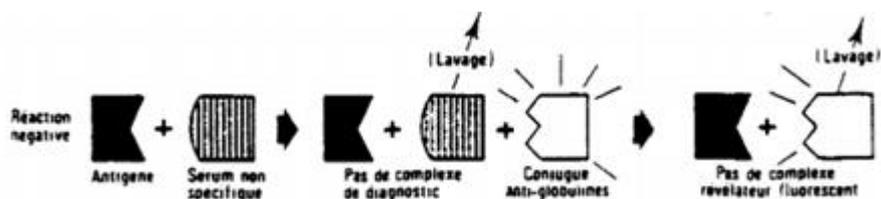


Figure 4.5 : Réaction IFI négative [78]

Ces études suggèrent donc que l'augmentation significative du taux d'anticorps anti*leishmania* n'est pas concomitante de l'infection active du parasite, et que de plus, une inoculation intradermique du parasite pourrait entraîner une augmentation du titre sérique sans parasitémie. On peut donc effectivement s'interroger sur la valeur du diagnostic sérologique dans le cadre de la leishmaniose féline. La sérologie semblant être un témoin insuffisant de la présence (ou de l'absence) des leishmanies chez le chat.

- PCR ou réaction d'amplification de gène (Polymerase Chain Reaction)

L'objectif de cette méthode diagnostique est d'amplifier une région déterminée de l'ADN du parasite (ADN cible) pour détecter ou non sa présence. On réplique un grand nombre de fois *in vitro* une séquence d'ADN à l'aide de une amorce complémentaire (sens-anti sens) encadrant cette séquence, en utilisant

la Taq polymerase. Chez *Leishmania sp*, il existe une cible d'ADN répétée en plusieurs milliers d'exemplaires: le kinétoplaste, ce qui a permis la mise en place d'une méthode PCR ultra-sensible. Cette technique s'effectue à partir d'un échantillon de moelle osseuse, de noeud lymphatique, de sang ou de peau.

La réaction est simple, spécifique et extrêmement sensible.

Des études effectuées chez le chien soulèvent quelques interrogations quant à cette technique. En effet, des taux très élevés de résultats positifs sont obtenus à partir de prélèvements de peau de chiens apparemment sains en zone d'endémie, certains ayant une sérologie négative, laissant supposer la possibilité d'une contamination cutanée fréquente.

Par contre, des PCR réalisées sur des ponctions de moelle osseuse ou de ganglions s'avèrent positives sur des chiens séronégatifs [75]. De plus, dans l'étude menée en Italie, sur les 11 chats séropositifs testés de nouveau quelques mois plus tard, tous sont positifs à la PCR effectuée sur les noeuds lymphatiques, et seulement 5 sur celle effectuée à partir de prélèvements sanguins [76].

La méthode PCR sur noeuds lymphatiques ou moelle osseuse semble donc plus performante que la PCR sur sang.

L'avantage de ces méthodes indirectes est leur grande sensibilité. La sérologie révèle l'existence d'une réaction immunitaire, la PCR la présence du génome du parasite. L'inconvénient majeur est donc qu'elles ne sont que les témoins d'un contact avec les leishmanies, mais non d'une infection active.

Il y a ainsi à notre disposition 2 types de méthodes :

- Méthodes directes qui permettent un diagnostic de certitude mais qui manquent fortement de sensibilité ;
- Méthodes indirectes qui sont très sensibles mais ne prouvent pas une infection active.

Les résultats de ces techniques sont donc à replacer dans le contexte épidémioclinique de l'animal.

L'étude des réponses immunitaires dirigées contre le parasite est nécessaire afin de mieux comprendre l'immunité de l'hôte face à l'organisme pathogène et de pouvoir alors développer des vaccins contre les maladies humaines et animales.

L'infection d'un chien par *Leishmania spp.* ne se manifeste pas nécessairement par l'expression de la maladie. On distingue ainsi, au sein de chiens infectés, des animaux symptomatiques et des animaux asymptomatiques. Cette dualité peut suggérer une différence dans la réponse immunitaire.

5-1- Rappels

L'immunité met en jeu deux processus :

- l'immunité non spécifique, ou immunité innée, d'action immédiate, qui fait intervenir entre autres les cellules douées de phagocytose ;
- l'immunité spécifique, ou immunité acquise, qui se développe en quelques jours et dépend de la reconnaissance spécifique de la substance étrangère, prélude à sa destruction; elle peut garder la mémoire de la « rencontre ».

5-1-1- Cellules de l'immunité

➤ Lymphocytes

Ils sont présents dans le sang, la lymphe et tous les organes lymphoïdes. Deux types principaux de lymphocytes coexistent : les lymphocytes B (LB) et les lymphocytes T (LT).

Ce sont des cellules effectrices de l'immunité acquise. Chaque lymphocyte porte un récepteur lui permettant d'identifier un déterminant antigénique (épitope) [79].

On distingue deux populations de lymphocytes T :

- CD-8 sont des lymphocytes précurseurs des lymphocytes cytotoxiques (LTc) ;
- CD-4 sont des lymphocytes précurseurs des lymphocytes helper ou auxiliaires (LTh) : ils ont entre autres rôles celui d'activer les cellules de la réaction immunitaire : macrophages, LB, LTc. Selon l'environnement dans lequel ils se trouvent, les LTh se différencient soit en LTh1 qui orientent la réponse immunitaire vers une immunité à médiation cellulaire (LTc), soit en LTh2 qui orientent la réponse immunitaire vers une immunité à médiation humorale (production d'anticorps).

➤ Cellules NK

Les cellules NK (Natural Killer) ont été qualifiées de cellules tueuses naturelles car elles sont capables de lyser des cellules étrangères à l'organisme de manière indépendante de l'antigène et sans activation préalable, au contraire des lymphocytes T. De nombreux mécanismes de régulation empêchent les cellules NK de s'attaquer aux cellules saines, et l'activation des cellules NK dépend entre autres de la diminution d'expression du CMH I à la surface des cellules anormales [79].

➤ Cellules présentatrices d'antigènes

Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) sont des cellules diverses qui ont en commun la faculté d'exprimer les molécules CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) de classe II. Elles présentent les antigènes aux LT4 [79].

Les principales CPA sont :

- ISystème des phagocytes mononucléés (SPM) : monocytes et macrophages,
- Cellules dendritiques (dont les cellules de Langerhans),
- Lymphocytes B.

5-1-2- L'activation des lymphocytes

L'activation des lymphocytes dépend d'abord de la reconnaissance simultanée de l'antigène et de la molécule du CMH de classe I ou de classe II :

- molécules de classe I + peptide endogène reconnu par les lymphocytes T cytotoxiques ;
- molécules de classe II + peptide exogène reconnu par les lymphocytes T helpers.

La reconnaissance de l'antigène constitue le premier signal, mais, pour que le lymphocyte soit activé, un second signal est nécessaire : il est fourni par des molécules de costimulation et par des cytokines.

Les lymphocytes B activés se différencient en plasmocytes qui vont produire les anticorps et les lymphocytes T activés en LTc, qui sécrètent des molécules cytotoxiques et des facteurs solubles appelés cytokines, et deviennent les acteurs de l'immunité à médiation cellulaire [79].

5-2- Les molécules de l'immunité

➤ Cytokines

Les cytokines interviennent dans le dialogue entre lymphocytes, macrophages et autres cellules intervenant au cours de la réaction inflammatoire et des réponses immunitaires. Elles exercent leurs effets sur les cellules qui les ont produites (effet autocrine), sur d'autres cellules proches (effet paracrine) ou encore agissent à distance sur des organes ou tissus (effet endocrine) [79]. Ce sont des petites glycoprotéines (poids moléculaire situé entre 10 et 50 kDa). Il n'y a pas d'homologie dans leur structure. Elles sont toutes synthétisées de novo. On ne les trouve généralement pas dans les cellules au repos et elles ne sont produites qu'à la suite d'une activation.

Les lymphocytes Th sont les principales cellules productrices, mais d'autres cellules en produisent également : presque toutes les cellules du système immunitaire, les fibroblastes, les cellules de l'endothélium vasculaire, les cellules épithéliales.

Les cytokines agissent "en cascade" (l'une peut induire la production de l'autre) et sont pléiotropes (plusieurs effets sur plusieurs cellules cibles). Elles peuvent avoir des actions redondantes (plusieurs cytokines peuvent partager les mêmes fonctions), synergiques ou antagonistes. Qui plus est, une même cytokine peut être produite par différents types cellulaires et une cellule donnée produit le plus souvent plusieurs cytokines distinctes. Elles se fixent à des récepteurs membranaires spécifiques, plus ou moins abondants. L'expression de ces récepteurs est souvent soumise à l'action des cytokines elles-mêmes. Les principales cytokines aujourd'hui connues sont les interleukines (IL), les interférons (IFN- α , β , γ , etc), les facteurs de croissance hématopoïétiques (les "CSF"), le facteur de nécrose des tumeurs (TNF- α) et le « transforming growth factor β », TGF- β .

L'IL-1, le TNF- α et l'IL-6 (principalement sécrétés par les macrophages) jouent un rôle majeur dans l'inflammation. L'IL-1 est aussi un cosignal d'activation des lymphocytes Th : elle stimule leur prolifération, favorise l'expression du récepteur de l'IL-2 et augmente leur production de cytokines. L'IL-2 est avant tout un puissant stimulant des lymphocytes T, qui en expriment le récepteur spécifique lorsqu'ils sont activés. Les IL-4, 5 et 6 sont principalement des activateurs des cellules B, et sont produites notamment par les cellules Th2 : elles favorisent la différenciation des lymphocytes B et contribuent au "switch" (ou "commutation

isotypique") : c'est-à-dire à la synthèse d'anticorps de différentes classes.

Entre autres fonctions, l'IFN- γ active les macrophages et augmente l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité, stimulant donc la reconnaissance des antigènes par les lymphocytes T cytotoxiques.

Il est d'ailleurs possible de distinguer deux sous-groupes de cellules T "helper", en fonction de leur production de cytokines (tableau 2) :

- les cellules Th1, qui synthétisent de l'IL-2, de l'IFN- γ et de l'IL-12, sont les médiateurs de l'hypersensibilité retardée, des interactions Th-Tc et de l'immunité cellulaire anti-infectieuse et anti-tumorale ;
- les cellules Th2, productrices d'IL-4, 5, 6 et 10, sont les auxiliaires des lymphocytes B.

➤ Immunoglobulines

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines comprenant quatre chaînes : deux chaînes lourdes identiques et deux chaînes légères identiques réunies entre elles par des ponts disulfures. Elles sont divisées en 5 classes : IgG (IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4), IgM, IgA (IgA1 et IgA2), IgD et IgE. Les immunoglobulines synthétisées par les plasmocytes diffusent dans le sérum et les humeurs et se lient à l'antigène pour former des immuns complexes éliminés par les phagocytes [79].

5-3-Les réactions immunitaires lors de leishmaniose : modèle général

Après l'inoculation de promastigotes métacycliques par le phlébotome, les leishmanies se transforment en amastigotes intra-macrophagiques, macrophages à l'intérieur desquels le parasite peut persister et se multiplier (à la différence d'autres protozoaires), permettant ensuite sa dissémination dans l'organisme et la généralisation de l'infection.

5-3-1- Immunité innée

-Les antigènes majeurs du parasite : gp63 et LPG

Le processus immunologique commence par la présentation aux cellules immuno-compétentes des antigènes leishmaniens. Les antigènes majeurs du parasite sont la gp63 et le LPG ou lipophosphoglycane de surface. La gp63, glycoprotéine majeure de surface de la leishmanie, est un antigène essentiel impliqué dans le processus d'échappement au système de défense de l'organisme et dans sa

capacité à le coloniser. En outre, la gp63 est l'un des antigènes susceptible d'induire une réaction immunitaire favorable. Elle est l'un des antigènes majeurs présentés par les cellules présentatrices d'antigènes au système immunitaire compétent [107].

- Rôle des macrophages

Le premier moyen de défense de l'hôte est une réponse immunitaire non spécifique.

Suite à l'infection, les macrophages tissulaires ou sanguins constituent la première ligne de défense, car ils ont pour fonction de phagocyter les leishmanies et de présenter leurs antigènes aux lymphocytes, initiant ainsi une réponse plus ou moins spécifique de ces cellules. Le macrophage joue le rôle de cellule présentatrice d'antigènes aux lymphocytes, en particulier aux lymphocytes T auxiliaires (ou « helper » : LTh) qu'il stimule grâce à une interleukine, l'IL-1 [80] ; [59]. La survie des parasites à l'intérieur des macrophages montre qu'ils ont résisté à l'action lytique exercée par l'environnement intracytoplasmique (pH acide : 4,5-5,0, enzymes lysosomales, hydrolases, etc.). En effet, plusieurs mécanismes permettent aux leishmanies d'y échapper. Elles ont la capacité d'inhiber la protéine kinase C, une enzyme intervenant dans la synthèse de métabolites oxygénés par les macrophages. Elles produisent par ailleurs des lipophosphoglycanes qui empêchent la maturation des phagolysosomes macrophagiques. Mais une réponse immunitaire spécifique, cellulaire et humorale, se met également en place [80] ; [81].

- Rôle des cellules de Langerhans

On considère généralement que la présentation des antigènes est également effectuée par les cellules de Langerhans, mais cette conception est mise en doute par certains auteurs ayant étudié le processus chez les souris soumises à l'infection par *Leishmania major* [82]. La réponse initiale à l'infection serait le fait des cellules dendritiques dermiques, tandis que les cellules épidermiques de Langerhans seraient responsables des phénomènes d'évasion immunitaire des parasites : les promastigotes qui ont pénétré dans les cellules de Langerhans échapperaient aux réactions immunitaires. Cette hypothèse rendrait compte de

l'incapacité des cellules de Langerhans activées par les antigènes leishmaniens de conférer l'immunité.

Les cellules dendritiques élaborent de l'IL-12, qui active les cellules tueuses naturelles (cellules NK), les macrophages et les polynucléaires neutrophiles. Les cellules tueuses sécrètent de l'IFN- γ qui active les macrophages, puis lysent les macrophages parasités ; les polynucléaires, activés par l'IFN- γ détruisent les leishmanies par action oxydative (action du monoxyde d'azote : NO) [83].

Lorsque l'agent ne peut être éliminé par l'activité anti-microbienne non spécifique, une réponse spécifique peut être établie, dirigée en partie par les cytokines et anticorps dérivés des lymphocytes reconnaissant de manière spécifique les antigènes parasitaires exprimés sur les macrophages. Cependant, un échappement à ces défenses est souvent observé, aboutissant à l'apparition des signes cliniques [80].

5-3-2-Immunité acquise

Les réactions immunologiques à l'infection leishmanienne sont bien connues dans le cas de la leishmaniose dermatrope à *Leishmania major* inoculée à des souris résistantes : réponse de type Th1 productrice de taux élevés d'IL-2, d'IFN- γ et de NO.

Activation des macrophages et synthèse de NO

Le principal mécanisme impliqué dans la réponse immunitaire protectrice est l'activation des macrophages par IFN- γ et TNF- α pour tuer les amastigotes intracellulaires.

Les métabolites de l'oxygène (O_2^- , H_2O_2 , OH^\cdot) sont produits par les macrophages activés par ces cytokines. Ces macrophages libèrent davantage d'ions superoxydes et d'eau oxygénée que les macrophages résidents normaux, et leurs mécanismes de toxicité indépendants de l'oxygène sont plus efficaces [83].

Le monoxyde d'azote (NO) est l'un des produits cytotoxiques dont la synthèse est fortement stimulée par des cytokines telles que le TNF- α et l'IFN- γ qui agissent en synergie. C'est un métabolite de la L-arginine, produit par les macrophages et les cellules endothéliales. Il contribue à la résistance de l'hôte dans la leishmaniose en provoquant la destruction des parasites [84]. Sa production est le résultat de l'activation des macrophages parasités, par la voie génératrice de NO synthase :

iNOS (i=inducible) [83].

L'implication de la voie du NO dépendant de la L-arginine dans la destruction des *Leishmania* par les macrophages est démontrée par plusieurs faits : l'addition de l'inhibiteur de NOS, la NG-monométhyl-L-arginine, inverse l'activité leishmanicide et les donneurs chimiques de NO induisent la destruction extracellulaire et intracellulaire des espèces de leishmanies [80].

Remarque : Sensibilité ou résistance (le modèle murin)

Au stade amastigote, l'immunité dépend de la régulation de l'équilibre entre les réactions immunologiques de type Th1 et Th2.

L'acquisition de l'immunité protectrice dépend de la capacité de l'organisme à élaborer une réaction de type Th1, de nature cellulaire, avec des cellules CD4 produisant de l'IFN- γ , de l'IL-12 et de l'IL-2, qui joue un rôle primordial ; le degré de la protection conférée est fonction du nombre des cellules T CD4 intervenant. De ce processus résulte la constitution de granulomes, au sein desquels s'exerce la capacité leishmanicide des macrophages, générateurs de NO (action des leucotriènes) et des neutrophiles : action des substances oxygène-réactives [83]. La réaction Th2, productrice d'anticorps, n'est pas protectrice : des taux élevés d'IgG sont observés au cours de leishmanioses chroniques, n'ayant pas tendance à la guérison. La réaction Th2 favorise plutôt la pathogénicité des leishmanies par la production d'IL-4, d'IL-10 et de TGF- β , qui désactivent la réaction Th1. Ainsi, la voie Th2 est à l'origine de la persistance d'une population parasitaire [83].

Alors que la résistance à l'infection reste largement associée à l'action de l'IL-12 produit par une réponse de type Th1, les études utilisant des souris déficientes pour certains gènes ont mis en question le rôle de l'IL-4 dans la sensibilité à la maladie ainsi que des autres candidats impliqués : il a été montré que l'IL-4 n'a pas de rôle aggravant dans la leishmaniose murine. Non seulement les réponses Th2 peuvent être induites indépendamment de l'IL-4 mais aussi que dans certaines circonstances l'IL-4 peut orienter vers la production d'IL-12 et d'une réponse de type 1 [85] ; [86] ; [87].

L'IL-10 est clairement, quant à elle, la principale cytokine immunosuppressive favorisant l'apparition de la maladie et contribuant également de manière significative au maintien d'infections aussi bien chroniques que latentes [85].

L'association de la voie Th1 à la résistance et de la voie Th2 à la sensibilité aux

leishmanies intracellulaires est en réalité une simplification d'un système bien plus complexe d'interactions régulatrices et contre-régulatrices. Ces mécanismes dépendent des espèces de *Leishmania* étudiées, de l'hôte utilisé et du tissu examiné [85].

Les cellules T régulatrices ont été démontrées comme étant la seule population connue de cellules T CD4+ capables d'empêcher les maladies auto-immunes et de supprimer l'activation ou la multiplication des lymphocytes autoréactifs. D'une manière générale, elles peuvent être définies par leur capacité à contrôler les réponses immunitaires excessives ou mal dirigées (réponses contre les antigènes du soi ou contre d'autres pathogènes) [88].

Les cellules T régulatrices sont impliquées dans l'induction de l'immunosuppression lors des infections leishmaniennes chroniques. Elles s'accumulent rapidement dans les sites d'infection de *Leishmania major*, supprimant la capacité de la réponse immunitaire à détruire complètement le parasite. Chez la souris, la persistance du parasite est en effet contrôlée par des cellules T régulatrices endogènes : CD4+ et CD25+, qui expriment fortement le gène Foxp3 (essentiel au développement et au fonctionnement de ces cellules T régulatrices) et la réactivation de la maladie est associée à une augmentation de leur nombre. Ces cellules sécrètent du TGF- β qui participe à la régulation de la croissance du parasite en favorisant sa multiplication et en empêchant la réponse inflammatoire.

Les cellules régulatrices CD4+ et CD25+ sont également capables de sécréter de l'IL-10, qui contribue également à l'immunosuppression [89].

5-4-Les réactions immunitaires du chien infecté par *Leishmania infantum*

- Infection expérimentale des chiens

L'infection expérimentale des chiens pour étudier les réponses immunitaires présentes au cours de la leishmaniose est très différente d'une infection naturelle pour les raisons suivantes [90] :

- le nombre de parasites nécessaires à la réussite d'une infection expérimentale est extrêmement élevé et est probablement plusieurs ordres de grandeurs au-dessus du nombre de promastigotes déposés par le phlébotome lors d'une infection naturelle ;
- lors d'une infection naturelle, les parasites sont inoculés avec la salive du

phlébotome, dont le rôle a été démontré dans l'infection ;

- infecter des chiens par la piqûre de phlébotomes infectés expérimentalement est techniquement difficile. Killick-Kendrick et al. (d'après Pinelli et al., [90]) ont effectué la préparation de doses infectantes de *Leishmania infantum* à partir de phlébotomes infectés expérimentalement (autorisés à se nourrir sur un chien infecté cliniquement). Ces doses contenaient un extrait de glandes salivaires de phlébotomes qui améliore l'infectivité du parasite. L'infection des chiens s'est faite par inoculation intradermique de $5-8 \times 10^3$ promastigotes métacycliques prélevés sur les phlébotomes. Cette technique, plus proche de la réalité de l'infection naturelle, demande des niveaux d'expertise rarement disponibles.

- Différences entre les réponses immunitaires des chiens résistants et des chiens sensibles

Chez le chien, l'état de « résistance », c'est-à-dire l'absence de symptômes chez un chien infecté, est caractérisé par une forte immunité cellulaire protectrice, tandis que celui de « sensibilité », caractérisé par le développement de la maladie, correspond à une forte réponse humorale (fort taux d'anticorps) [91]. La présence d'une forte immunité cellulaire est recherchée par le test cutané à la leishmanine, aussi connu comme la réaction de Monténégro, méthode de choix pour mettre en évidence les réponses spécifiques d'hypersensibilité retardée (ou hypersensibilité de type IV) chez le chien. Le test cutané à la leishmanine est utilisé pour mettre en évidence l'immunité cellulaire spécifique dirigée contre des parasites du genre *Leishmania* chez les chiens asymptomatiques vivant en région endémique ; en effet, l'hypersensibilité de type IV ou retardée ne se produit que chez des individus déjà sensibilisés ; lors du contact avec l'antigène injecté dans le derme, les CPA (macrophages et cellules de Langerhans) captent cet antigène et le présentent aux LT mémoire circulant dans l'organisme. La reconnaissance de l'antigène par les LT CD4 mémoire provoque la synthèse de cytokines (en particulier IFN- γ). Il en résulte un recrutement de macrophages activés à l'endroit de l'inoculation en 48 à 72 heures, ayant pour rôle de phagocyter les antigènes responsables de l'activation, et un recrutement de LT mémoire. C'est cet afflux important de cellules qui se traduit macroscopiquement par une papule inflammatoire au site d'injection de la leishmanine [92].

La leishmanine est une suspension tuée de promastigotes entiers (0,5-1.107/mL)

ou détruits (250 µg de protéines/mL) dans une solution saline sans pyrogène contenant du phénol. L'espèce de leishmanie utilisée n'a pas d'importance (il n'y a pas de spécificité d'espèce). Après 48 à 72 heures, une réaction positive donne un nodule induré entouré d'érythème, caractéristique de fortes réactions cellulaires.

Ce test est utilisé pour le diagnostic des leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses humaines mais n'a pas de valeur pour le diagnostic de la leishmaniose canine (Cardoso et al., 1998). La présence d'une forte réponse humorale est mise en évidence par la détection d'anticorps spécifiques anti-leishmanies dans le sérum [93].

✓ Chiens résistants

L'état de « résistance » se manifeste par l'apparition d'une réaction d'hypersensibilité retardée (test cutané à la leishmanine positif), témoignant de fortes réactions cellulaires, associée à un titre bas en anticorps anti-leishmanies [93] ; [94]. Ces fortes réponses cellulaires sont liées à l'activation des cellules Th1 produisant de l'IL-2, de l'IFN-γ et du TNF-α [91] ; [90]. L'IFN-γ a un rôle clé dans l'activation des macrophages et la destruction des amastigotes intracellulaires, en collaboration avec le TNF-α, décrit comme le mécanisme effecteur principal dans le contrôle de la dissémination du parasite [95].

Les effets de l'IFN-γ sont accentués par la présence du TNF-α : en effet, en l'absence d'un signal dérivé d'autres molécules comme le TNF-α, l'IFN-γ seul est inefficace pour activer les mécanismes de destruction du parasite dans les macrophages [96].

L'interleukine-12 aurait également un rôle dans l'induction et le maintien d'une réponse Th1. En effet, on observe, pendant une courte période, l'expression simultanée de l'IL-12p40, en plus de l'IL-2 et des transcrits d'ARNm d'IFN-γ chez les chiens expérimentalement infectés avec *Leishmania infantum*, indiquant que ces cytokines ont un lien avec le retard dans l'établissement de la maladie chez ces animaux. L'IL-12 augmente la production d'IFN-γ par les cellules mononucléées des chiens infectés naturellement ou expérimentalement, ce qui explique sa participation dans la réponse Th1 [94].

Quelques études ont démontré l'implication des lymphocytes CD8⁺ (lymphocytes T cytotoxiques) dans la résistance à la leishmaniose canine. Ces lymphocytes

sont détectés chez les chiens asymptomatiques expérimentalement infectés avec *Leishmania infantum* mais sont absents chez ceux symptomatiques, suggérant que la lyse directe des macrophages infectés par des lymphocytes T cytotoxiques représente un mécanisme supplémentaire dans la résistance à *Leishmania infantum* [94].

La résistance à la leishmaniose canine est associée à une faible réponse humorale. [93] ; [91]. Les sous-classes IgG1 et IgG2 sont considérées comme étant un indicateur plus adéquat du statut de leishmaniose canine par rapport aux IgG totales. Une corrélation directe entre la mise en place de forts taux d'anticorps anti-leishmanies de type IgG1 et l'apparition de signes cliniques a été démontrée, tandis que les anticorps IgG2 ont été associés à l'infection asymptomatique [97]. Cependant ces résultats n'ont pas été confirmés par d'autres études dans lesquelles des chiens présentant une réaction cutanée d'hypersensibilité retardée montraient des réponses immunitaires humorales polymorphes allant de titres négatifs en anticorps à des titres positifs d'IgG1 ou IgG2. De plus, des titres élevés d'anticorps IgG2 ont été trouvés chez des chiens symptomatiques [93] ; [98] ; [99]. Une autre étude démontre que la réponse humorale à *Leishmania* n'est pas polarisée.

Des taux élevés des quatre sous-classes d'IgG étant notés pendant l'infection [100].

Des données plus récentes montrent une forte expression d'IgE spécifiques anti-leishmanies, en plus d'IgG1, chez les chiens symptomatiques de différentes zones endémiques. Les IgE pourraient donc être utilisés comme marqueur d'une maladie active [99].

✓ Chiens symptomatiques

L'état de « sensibilité » se manifeste par l'absence de réaction d'hypersensibilité retardée (test cutané à la leishmanine négatif), témoignant de faibles réactions cellulaires, associée à un titre élevé en anticorps anti-leishmanies, non protecteurs [93] ; [94].

Le développement de la maladie est corrélé à l'inhibition de la réponse Th1 protectrice, sans cytokines spécifiques associées. Mais la prédominance d'une réponse immunitaire de type Th2 n'a pas encore été démontrée dans ce cas car le rôle des cytokines de type Th2 n'a pas été prouvé [91].

L'étude des cytokines impliquées dans la sensibilité à la leishmaniose canine montre que les cellules du système des phagocytes mononucléés provenant de chiens symptomatiques produisent de faibles quantités d'IFN- γ , de TNF- α , d'IL-18 et d'IL-10. Ces résultats montrent la coexistence des cytokines de type Th1 et de type Th2 dans la leishmaniose symptomatique, témoignant d'une réponse mixte, sans prédominance d'une réponse par rapport à l'autre [91].

Bien que chez l'homme, la production d'IL-10 lors de l'infection à *Leishmania chagasi* (synonyme de *Leishmania infantum*) ait été corrélée à l'apparition de symptômes, une telle association n'a pas pu être établie au cours de la leishmaniose canine, les quantités d'IL-10 dans les tissus infectés étant les mêmes chez les chiens symptomatiques et chez les chiens asymptomatiques. De plus, l'IL-10 n'est généralement pas retrouvée chez les chiens symptomatiques, sauf occasionnellement lors d'infections anciennes. L'IL-10 ne semble donc pas avoir de rôle immunorégulateur prédominant dans la leishmaniose canine [95]. Le rôle de l'IL-4 en tant que cytokine impliquée dans la sensibilité à la maladie est controversé dans la leishmaniose canine [94] ; [95].

L'expression d'ARNm d'IL-4 n'a pas été observée dans des cellules mononucléées fraîchement isolées de chiens asymptomatiques bien que cette cytokine ait été détectée chez des chiens asymptomatiques stimulés par un antigène leishmanien soluble.

Chez les chiens symptomatiques l'expression d'ARNm d'IL-4 est observée dans le cas de cellules mononucléées stimulées par un mitogène et des ARNm d'IL-4 ont été retrouvés dans la myélographie de chiens présentant de sévères symptômes.

La mesure de l'IL-4 par ELISA dans le surnageant de cellules mononucléées stimulées par une cystéine-protéinase recombinante montre des niveaux élevés de cette cytokine dans le surnageant des chiens symptomatiques mais pas dans celui des chiens asymptomatiques [94] ; [95]. La réponse humorale non protectrice est précoce et intense. Comme il a été décrit précédemment [93] ; [98] ; [99], les résultats des études diffèrent quant à la sous-classe des IgG impliquées dans la sensibilité à la maladie. Les anticorps produits en quantité importante se complexent avec des antigènes et sont responsables de symptômes immunopathologiques relatifs aux complexes immuns : glomérulonéphrite, arthrite, uvéite. Ces animaux expriment donc rapidement un tableau clinique de pronostic très péjoratif.

Le suivi du taux d'anticorps est intéressant dans le contrôle de l'évolution favorable d'un traitement (diminution du taux) et dans la surveillance des rechutes (remontée du taux).

On constate également chez les chiens sensibles une diminution de l'expression des molécules CD80 et CD86 de co-stimulation sur les macrophages infectés, par rapport aux chiens symptomatiques. Une expression suffisante de ces molécules sur les macrophages infectés est donc requise pour l'activation des cellules T spécifiques produisant l'IFN- γ [90]. La figure ci-dessous représente les réactions immunitaires impliquées dans la sensibilité et la résistance à la leishmaniose.

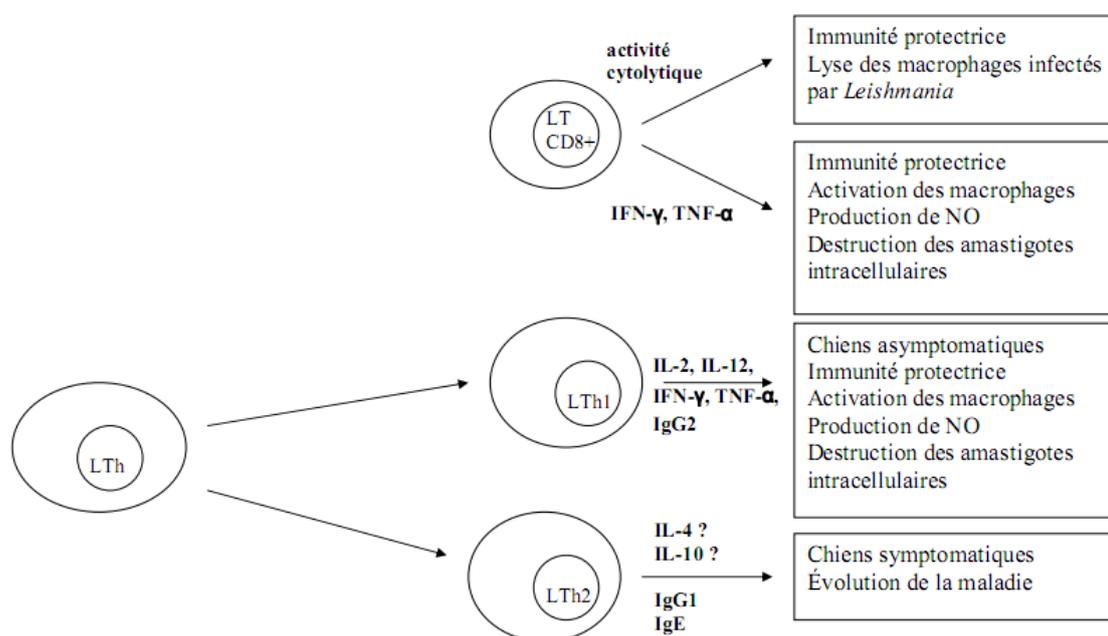


Figure 5.1: Représentation schématisée des réponses immunitaires lors de leishmaniose canine

5-5-Rôle de la salive du vecteur

La salive du vecteur contribue directement aux interactions entre *Leishmania* et la réponse immunitaire de l'hôte [101]. L'action de la piqûre des phlébotomes est liée à la vaste gamme de substances pharmacologiques présentes dans leur salive, qui perturbent l'hémostase et la réponse immunitaire de l'hôte. En effet ces molécules aux propriétés anti-coagulantes, anti-plaquettaires, vasodilatatrices, anti-inflammatoires et immunosuppressives augmentent la probabilité de survie du pathogène [101]. Le tableau 4 liste les propriétés de la salive du phlébotome.

Les leishmanies injectées avec de la salive ont un pouvoir infectant plus important que celles injectées seules et, lorsque peu de parasites sont injectés, la présence

de salive détermine si l'infection aura lieu ou non [90].

Tableau 5.1 : Propriétés de la salive du phlébotome [102]

Propriétés vasodilatatrices et immunomodulatrices de la salive du phlébotome
<ul style="list-style-type: none"> - inhibition de l'activation des cellules T - inhibition de l'activation des macrophages - inhibition de la production d'oxyde nitrique et d'H₂O₂ par les macrophages et de la destruction des parasites intracellulaires - augmentation du chimiotactisme et de la phagocytose des parasites par les macrophages - inhibition de l'IFN-γ, de l'IL-12 et de l'iNOS - augmentation de l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-10 - anticomplément - anticoagulation - vasodilatation

La salive du phlébotome oriente la réponse immunitaire de l'hôte vers une réponse de type Th2, caractérisée par une faible production de cytokines telles que l'IL-12 et l'IFN- γ , et une forte production de cytokines comme l'IL-4 et l'IL-10 [102].

En orientant la production de cytokines, les extraits de glandes salivaires suppriment à la fois la capacité des macrophages à être activés par l'IFN- γ et la fonction de présentation d'antigènes de ces cellules. Ils inhibent donc la production de NO et d'H₂O₂ par les macrophages, ce qui empêche la mort du parasite. Cependant, toutes les fonctions du macrophage ne sont pas affectées car la capture des pathogènes par les macrophages n'est pas altérée [103] ; [90].

D'un autre côté, les hôtes exposés de manière répétée aux piqûres de phlébotomes développent une réponse immunitaire contre des éléments antigéniques présents dans la salive de phlébotome. En effet, les sujets résidant en zone endémique qui ont une réaction d'hypersensibilité retardée au test cutané à la leishmanine développent aussi des anticorps IgG anti-salive de phlébotome et pourraient être protégés contre l'infection leishmanienne.

Ces anticorps pourraient donc servir de marqueur épidémiologique d'exposition au vecteur dans les zones endémiques et de marqueur de protection contre l'infection par la leishmaniose [101] .

Ces observations conduisent à une nouvelle approche des vaccins anti-leishmaniens, en utilisant des composants salivaires pour bloquer la transmission du parasite.

Il n'existe à l'heure actuelle aucune étude de traitement de la leishmaniose féline. Nous nous baserons donc sur le modèle du chien pour l'étude des molécules actives sur les leishmanies. Nous étudierons ensuite l'évolution de la maladie dans les cas rapportés dans la littérature mondiale lorsqu'un suivi a pu être réalisé, et nous verrons les quelques essais thérapeutiques qui ont été effectués.

6-1- Traitement de la leishmaniose canine

6-1-1- Décision thérapeutique

- Considérations préalables

Avant d'envisager le traitement long, lourd et coûteux de la leishmaniose canine, deux caractéristiques essentielles doivent être retenues par le praticien confronté au cas clinique [104]:

- le caractère zoonotique de la maladie : la leishmaniose viscérale humaine est due à la même espèce et au même zymodème de leishmanie. La transmission à l'homme se fait, de façon quasi-exclusive, par l'intermédiaire des phlébotomes préalablement infectés à la faveur d'un repas de sang pris sur un chien infecté : l'espèce canine constitue dans nos régions le réservoir du parasite. Notre attitude de clinicien et de thérapeute en la matière est donc potentiellement lourde de conséquences ;
- la persistance du parasite au sein de l'organisme : la leishmanie, par des mécanismes complexes, est capable non seulement de résister aux divers processus de destruction élaborés par le macrophage, mais également de s'y multiplier, de sorte que, non seulement tout chien leishmanien, exprimant des symptômes ou non, est susceptible d'entretenir un foyer endémique (parce qu'il héberge des parasites viables et infectants dans la lymphe dermique capables d'infecter des phlébotomes), mais en outre, même au terme d'un traitement, est exposé à des rechutes (c'est-à-dire des manifestations cliniques variées dues à une multiplication du parasite en divers tissus à partir de quelques leishmanies persistantes).

- Leishmaniose canine et santé publique

La protection de la santé publique est motivée par plusieurs éléments. Le nombre de cas cliniques humains autochtones n'est pas très élevé, mais le contact homme-parasite est fréquent : une enquête épidémiologique fondée sur un test intradermique à la leishmanine [105] a révélé une moyenne de 30 % de sujets présentant une réaction positive dans la localité de l'Abadie (Alpes-Maritimes), et jusqu'à 60 % chez des personnes âgées.

Ceci démontre qu'en zone d'endémie, la plupart des sujets sont piqués par des phlébotomes infectés, que ceci est proportionnel avec la durée de séjour dans le foyer et qu'ils élaborent à l'encontre de la leishmanie (dont ils sont porteurs) une réaction d'hypersensibilité retardée efficace. Or, les causes d'immunodépression deviennent de plus en plus variées et nombreuses [106] : soit virale (virus de l'immunodéficience humaine responsable du SIDA), soit iatrogénique (utilisation de corticoïdes et/ou d'immunodépresseurs) ; de tels sujets peuvent exprimer, à la faveur de l'immunodépression induite, une leishmaniose.

De plus, la transmission purement mécanique de leishmanies entre le chien (présentant des ulcères cutanés par exemple) et l'homme sensible (enfant, personne âgée ou immunodéprimée) est à envisager. La consultation d'un animal leishmanien vivant au sein d'une famille dont l'un des membres est sensible n'est donc pas médicalement sans risque.

6-1-2-Thérapeutique spécifique

Quelques molécules se sont avérées efficaces en matière de leishmaniose canine. Les molécules les plus couramment utilisées dans le traitement de la leishmaniose canine sont listées dans le tableau 6.

Tableau 6.1: Nom et protocole d'utilisation des principales molécules utilisées dans le traitement de la leishmaniose canine.

<i>principe actif</i>	<i>nom déposé</i>	<i>posologie</i>
antimoniote de méglumine	Glucantime®	100 mg/kg/j SC pendant 3-4 semaines
allopurinol	Zyloric®	(1) 20 mg/kg/j PO en continu (2) 15 mg/kg 2 fois par jour avec 100 mg/kg/j d'antimoniote de méglumine en SC
pentamidine	Lomidine®	2 puis 4 mg/kg, en IM profonde, toutes les 48h pendant plusieurs mois
paromomycine	non commercialisé en France	10-20 mg/kg/j IM pendant 4 semaines
amphotéricine B	Fungizone®	0,5-0,8 mg/kg, IV stricte en 5-30 secondes, 2 à 3 fois par semaine
amphotéricine B sous forme liposomale	AmBisome®	
kétoconazole	Kétofungol®	10-20 mg/kg/j en 2 prises quotidiennes, PO, pendant 2 mois
quinolones : enrofloxacin marbofloxacin	Baytril® Marbocyl®	10 mg/kg/j PO 2 mg/kg/j PO pendant 28 jours

6-2-Chez le chat

6-2-1-Données expérimentales

L'infection expérimentale de 13 chats avec *Leishmania braziliensis* et, le suivi est réalisé sur 72 semaines [30]. Les lésions cutanées atteignent leur taille maximale à 10 semaines post-infection, et commencent à décroître 15 jours plus tard. Les nodules des oreilles et du nez disparaissent respectivement à la 32^e et la 40^e semaine post-infection. Sur un chat, une lésion réapparaît 4 mois plus tard. Après 72 semaines, un seul chat présente encore une alopecie bilatérale, en particulier sur les membres, et un autre montre de faibles épisodes d'éternuements. A la fin de l'expérience, une adénomégalie est encore détectable sur 2 des 8 chats restants (un chat est mort à 24 semaines sans autopsie possible, les 4 autres chats ont été euthanasiés). Cependant, la maladie est contrôlée et tous les animaux paraissent sains. Dans cette étude, les chats présentent des lésions qui disparaissent spontanément en quelques semaines, et le suivi ne porte que sur 72 semaines.

En conditions naturelles, et parmi les cas répertoriés ici, la rémission est loin d'être la règle générale.

6-3- Données thérapeutiques de la leishmaniose canine

Plusieurs molécules et combinaisons de molécules ont été testées chez le chien.

6-3-1 - Molécules actives sur les leishmanies

Tableau 6.2: *Liste de molécules citées leishmanicides ou leishmaniostatiques.*
[104]

Principe actif	Nom commercial
Antimoniote de méglumine	Glucantime®
Pentamidine	Lomidine®
Allopurinol	Zyloric®
Amphotéricine B	Fungizone®
Quinolones* (Enrofloxacin)	Baytril®,
Miltefosine	Impavido®

- ✓ Antimoniote de méglumine

L'animal traité quel que soit son statut clinique et parasitologique, n'est plus source de parasites durant 4-5 mois, il le redevient ensuite, et parfois exprime une rechute. La dose quotidienne optimale est de 100mg/kg, par voie sous-cutanée. La durée d'administration doit être de 20 jours au minimum (voire 30 jours) de façon continue.

✓ Allopurinol

Cette molécule est leishmaniostatique, et lorsqu'elle est utilisée seule, à la dose de 10-20 mg/kg/jour per os durant plusieurs mois, elle diminue les risques de rechute, mais son utilisation seule ne suffit pas à traiter la leishmaniose.

✓ Pentamidine

L'isoethionate de pentamidine est le seul sel de pentamidine actuellement disponible, le mesylate de pentamidine (Lomidine®) ayant été retiré. Ses injections sont parfois douloureuses et peuvent s'accompagner d'hypotension et de nausées. Elle est utilisée à la dose de 3 à 4 mg/kg en 1-3 injections quotidiennes en I.M, à plusieurs jours d'intervalles.

✓ Amphotéricine B

Elle est utilisée à la dose de 0,5 à 0,8 mg/kg jusqu'à un total de 8 à 15 mg, par voie intraveineuse stricte, en 2-3 fois par semaine. Ce traitement est efficace mais il est formellement proscrit, car il constitue la base de la thérapeutique chez l'homme. Cette molécule, qui permet une stérilisation parasitaire totale, est donc à bannir chez le chien et chez le chat, afin de ne pas favoriser l'apparition de souches résistantes.

✓ Aminosidine (paromomycine)

Ses résultats sont satisfaisants à la dose de 5mg/kg maximum, 2 fois par jour pendant 3 à 4 semaines. Cependant, la prescription de ce traitement requiert un bon fonctionnement rénal, ce qui limite fortement son champ d'utilisation.

✓ Spiramycine associée au Métronidazole

Ce traitement comprend 150 kUI/kg de spiramycine, et 25 mg/kg/jour de métronidazole par voie orale pendant 13 semaines, en association avec le Glucantime® ou l'enrofloxacin. Des essais cliniques ont montré des résultats satisfaisants, mais qui ne sont pas supérieurs à ceux obtenus avec le traitement consensus.

✓ Fluoroquinolones

L'enrofloxacin, à la dose de 20 mg/kg/jour par voie orale pendant 4 semaines ou en association avec le métronidazole 10 mg/kg/jour par voie orale pendant 4 semaines, et la marbofloxacin, à la dose de 2mg/kg/jour *per os* pendant 10 à 40 jours, sont des molécules qui donnent *in vitro* de bons résultats mais qui nécessitent confirmation par des essais cliniques.

✓ Dérives de l'imidazole

Ces molécules donnent des résultats décevants.

✓ Millefosine

Elle a montré des résultats prometteurs, avec une bonne efficacité, une faible toxicité et une administration aisée. L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) a interdit son usage pour les animaux, afin d'éviter l'émergence de souches de leishmanies résistantes.

-Traitement chez le chien

A partir des données actuelles, et en combinant les différents critères d'efficacité, de toxicité minimale, et de santé publique [104], le traitement actuel à privilégier chez le chien est fondé sur l'utilisation de l'antimoniote de meglumine (Glucantime®) à la dose de 100 mg/kg/jour, pendant au moins 21 jours et pouvant être prolongé jusqu'à 28 jours, exclusivement par voie sous-cutanée, en association avec l'Allopurinol (Zyloric®), à la dose de 15 mg/kg matin et soir, tous les jours, en permanence. Cette association donne des résultats cliniques et sérologiques et des fréquences de rechutes plus favorables qu'en cas d'utilisation de ces composés seuls.

L'animal ainsi traité reste toutefois exposé aux rechutes : la thérapeutique actuelle ne permet pas la stérilisation parasitaire de l'animal. Un suivi de l'état clinique, des

analyses biologiques et de la sérologie, est nécessaire afin d'éviter une éventuelle récurrence. Enfin, l'allopurinol à la dose de 15 mg/kg matin et soir de façon continue diminue significativement les risques de récurrence. A partir des études effectuées chez le chien et en l'absence de données chez le chat, des traitements ont été tentés dans certains cas.

6-4- Suivi des cas de leishmaniose féline

Sur les 35 cas répertoriés, le suivi de 22 d'entre eux est réalisé. 7 cas sont morts spontanément (32 % des chats suivis), 6 cas présentent une guérison clinique (27 % des chats suivis). Le suivi de ces chats n'est pas standardisé, ce qui rend difficile une étude comparative de ces cas. Ils sont répartis en 2 catégories : les chats non traités et les chats recevant un traitement spécifique de la leishmaniose.

6-4-1-Chats non traités

Sur les 22 chats suivis, 15 n'ont reçu aucun traitement spécifique de la leishmaniose.

Sur ces 15 cas, 7 chats sont morts spontanément, soit 27% des cas suivis et 47% des chats n'ayant reçu aucun traitement spécifique de la leishmaniose. 2 d'entre eux présentaient des affections intercurrentes graves (affection pulmonaire, FIV).

La description de 3 cas nous informe de l'existence de signes généraux (amaigrissement, lymphadénite et splénomégalie, hépatomégalie et splénomégalie avec envahissement de ces organes par des leishmanies). Chez le chat, la dissémination du parasite dans l'organisme semble donc pouvoir engendrer la mort. Parmi les 8 autres chats, 5 sont euthanasiés et 3 montrent une récurrence, une persistance ou une aggravation des lésions. 2 d'entre eux développent une insuffisance rénale chronique.

6-4-2- Chats traités contre la leishmaniose

L'exérèse seule des lésions ne semble pas suffisante : elle a été réalisée en première intention dans 4 cas. L'un d'entre eux est mort, les autres ont présenté des récurrences. Des essais thérapeutiques ont été réalisés sur 9 chats, et la guérison clinique a été obtenue pour 6 de ces cas (67%). Plusieurs

traitements ont donc été essayés à partir des molécules plus ou moins efficaces chez le chien.

Tableau 6.3- Molécules utilisées : Evolution chez les chats traités.

Molécule	Résultats
Antimoniote de méglumine	2 fois, seul ou en association avec du kétoconazole a entraîné une guérison clinique
Allopurinol	Employé seul ou associé à diverses molécules (interferon, corticoïdes, antibiotiques). Dans les 4 cas utilisés, la guérison clinique a été obtenue
Pentamidine	Guérison clinique (employée une seule fois)
Aminosidine	En topique n'a entraîné aucune amélioration.
Spiramycine + metronidazole	Utilisée une seule fois, avec du fluconazole, il s'est avéré inefficace chez le chat.
Fluoroquinolones	Enrofloxacin associée à l'allopurinol dans un cas, la guérison clinique a été obtenue.
Dérivés de l'imidazole	Clotrimazole en topique et le levamisole dans un cas, et l'itraconazole dans l'autre cas, n'ont eu aucun effet.

CONCLUSION

Le chat est considéré comme un hôte inusuel de *Leishmania* spp. Par différentes méthodes (HAI, IFI, ELISA, WB), la séroprévalence varie de 0,6% à 59%.

Trois zimodèmes ont souvent été signalés : MON1 (2 cas), MON72, MON201.

L'hémogramme a révélé, une neutrophilie, une lymphopénie, une pancitopénie, une anémie et, plus rarement une éosinophilie. L'électrophorèse des protéines réalisées chez 15 chats a révélé une hyperglobulinémie (14 cas) et une hypoalbuminémie (11 cas).

Bien que le chat semble susceptible de transmettre les leishmanies, le portage du parasite par cette espèce est mal estimé. Ainsi, le rôle du chat dans le cycle du parasite est encore méconnu. Constitue-t-il un hôte occasionnel, un réservoir secondaire?

Ces questions ont leur importance non seulement en médecine vétérinaire, mais également dans le cadre de la santé publique, compte tenu du caractère zoonotique de la maladie. Le chat est également une victime de la maladie. Les cas recensés restent rares, mais s'agit-il d'une capacité du chat à éliminer le parasite, ou simplement du fait que la leishmaniose féline est sous diagnostiquée ?

Le traitement courant de la leishmaniose, le plus utilisé par les vétérinaires étant l'association antimoniate de méglumine-allopurinol, se heurte à des problèmes de toxicité, de rechutes et de résistances, si bien que le traitement optimal de la maladie et la stérilisation parasitaire sont encore impossibles. En revanche, des progrès ont été réalisés dans la prophylaxie de la leishmaniose canine, c'est-à-dire la prévention de l'infection par la réduction des piqûres de phlébotomes grâce à des insecticides topiques et par la vaccination (vaccin disponible au Brésil depuis 2004) [108].

En Algérie, aucun cas de leishmaniose féline n'a été diagnostiqué et publié dans la littérature, hormis celui d'un chat « suspect » présentant une dermite ulcérate au niveau des lèvres, de la tête et de l'oreille [109]. Toutefois, sur 35 cas, 18 ont été recensés ces dix dernières années à travers le monde et, le nombre de cas découverts semble être en progression constante (5 cas en 2005) [4]. Le chat n'exprimerait-il que rarement cette pathologie et de ce fait cette dernière est sous diagnostiquée voire ignorée au profit d'autres maladies propres à l'espèce ?

D'un point de vue épidémiologique, le rôle du chat dans la dissémination du parasite est inconnu [4]. Peut-on considérer le chat en Algérie (zone d'endémie de la leishmaniose), comme réservoir primaire ou accidentel (accessoire) de la pathologie ? L'objectif de notre étude est d'essayer dans la mesure du possible, d'apporter des éléments de réponses (fussent-ils minimes) à ces questions grâce à un travail mené au niveau de la fourrière d'Alger sur un échantillon d'animaux (chiens et chats) exposés au même risque infectieux et ceci grâce à des méthodes sérologiques reconnues fiables (FLG, Witness, IFI). Ainsi, notre travail s'attèlera à établir des prévalences chez les deux espèces (chiens et chats) après lecture des résultats obtenus sur des prélèvements sanguins effectués sur ces animaux. Le tirage au sort s'est effectué sur une fréquence de cinq, c'est-à-dire qu'un prélèvement sanguin était réalisé après le passage de cinq (5) animaux. Ainsi, c'est toujours le sixième (6) sujet qui est prélevé.

I- MATERIEL et METHODES

1-Pré-enquête :

Une investigation a été menée auprès des vétérinaires installés dans la wilaya d'Alger afin d'essayer de découvrir des cas de suspicion de leishmaniose féline dans cette région.

Les questions posées visaient notamment leur type d'activité, leur expérience professionnelle, leur approche générale de la pathologie et enfin leur démarche clinique, diagnostique et thérapeutique de la leishmaniose.

2-Examen clinique

Sur le lieu de l'expérimentation, après tirage au sort des sujets, un examen clinique a été systématiquement entrepris afin de sélectionner les animaux présentant des symptômes évocateurs de la leishmaniose .Une légère tranquillisation s'est avérée parfois nécessaire afin de mieux maîtriser l'animal dans le but d'effectuer cet examen ainsi que les prélèvements sanguins .

3-Zone d'étude :

Après autorisation obtenue auprès de la fourrière canine (HURBAL) d'Alger, nous avons effectué des prélèvements sanguins sur 50 chiens et 50 chats tirés au sort après leur capture par le personnel de la fourrière.

La zone d'étude a couvert la wilaya d'Alger avec ses 57communes (Figure 1).La wilaya d'Alger s'étale sur une superficie de 230 Km² ,la population compte 3 657 342 habitants ,le climat est de type méditerranéen avec des étés chauds et secs et des hivers doux et humides ,la neige y est rare mais pas impossible ,les pluies sont abondantes et peuvent être diluviennes ,les températures y sont maximales de la mi juillet à la mi août (Wikipedia , 2010).

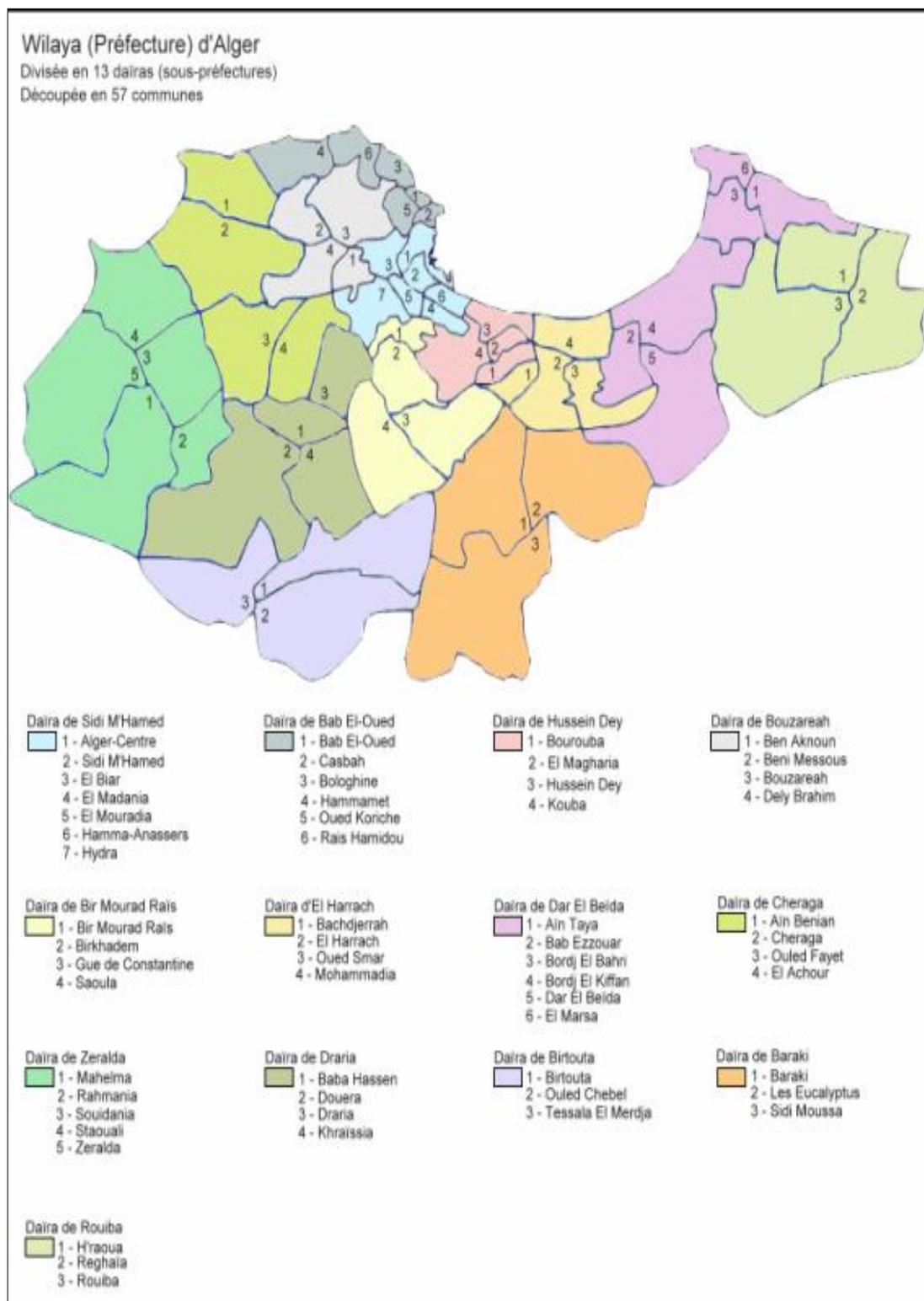


Figure 1 : Carte géographique Wilaya d'Alger (anonyme ; 2010)

4 - Population cible :

Elle est constituée de la population de chiens et de chats errants capturés par la fourrière (HURBAL) sachant que cette dernière couvre 57 communes de la wilaya d'Alger.

Cette population est composée essentiellement de chiens et de chats de race commune avec parfois la capture d'animaux de race pure, telle que Berger Allemand, Rottweiler et Doberman.

La fourrière prend en charge certains chiens dont les propriétaires font l'objet de poursuites judiciaires, ces animaux ne sont pas sacrifiés et de ce fait exposés à des risques infectieux vu l'environnement immédiat de la fourrière (figure 2) qui est une zone propice à la multiplication du vecteur (phlébotome) sachant que ce dernier est terricole laissant planer ainsi le risque de contamination du personnel de la fourrière.



Figure 2 : Sites immédiats de la fourrière (HURBAL).

5 - Méthode d'échantillonnage

Pour pouvoir déterminer le nombre de sujets nécessaires à introduire dans l'échantillon, nous avons utilisé les tables de Toma et al., [110] qui indiquent le nombre de sujets à étudier en fonction de :

- La précision relative souhaitée
- La prévalence attendue

Concernant la prévalence attendue et en fonction de la bibliographie qui traite de la leishmaniose féline, on peut estimer cette prévalence à 25%.

Pour le degré de précision, l'augmentation de celui-ci augmente le nombre de sujets

à étudier. Nous avons donc décidé de choisir un degré de précision de 50% ce qui permet l'étude d'un nombre faible d'animaux en raison des moyens matériels de diagnostic limités (kit Witness leishmania ne comprenant que 100 plaques).

Donc le nombre de sujets nécessaire à l'étude a été de 47 selon la table de Toma [110].

Tableau 1: Nombre de sujets nécessaire pour l'estimation d'une prévalence en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée. [110]

Précision relative	Prévalence attendue (p. cent)														
	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	
10 p. cent	3 8032	18 824	12 422	9 220	7 300	3 458	2 177	1 537	1 153	897	714	577	470	385	
20 p. cent	9 508	4 706	3 106	2 305	1 825	865	545	385	289	225	179	145	118	97	
30 p. cent	4 226	2 092	1 381	1 025	812	385	242	171	129	100	80	65	53	43	
40 p. cent	2 377	1 177	777	577	457	217	137	97	73	57	45	37	30	25	
50 p. cent	1 522	753	497	369	292	139	88	62	47	36	29	24	19	16	
60 p. cent	1 057	523	346	257	203	97	61	43	33	25	20	17	14	11	
70 p. cent	777	385	254	189	149	71	45	32	24	19	15	13	11	10	
80 p. cent	595	295	195	145	115	55	35	25	20	17	14	13	11	10	
90 p. cent	500	250	167	125	100	50	33	25	20	17	14	13	11	10	
100 p. cent	500	250	167	125	100	50	33	25	20	17	14	13	11	10	

6 - Intervalle de confiance

L'intervalle de confiance fournit l'étendue des valeurs dans lesquelles nous nous attendons à trouver la valeur réelle de l'indicateur étudié, avec une probabilité donnée. De cette façon, il donne une estimation de la différence potentielle entre ce qui est observé et ce qui arrive vraiment dans la population (figure 3), ce qui aide dans l'interprétation de la valeur de l'indicateur observé. L'intervalle de confiance de 95 % est le plus utilisé. Il ne doit être calculé que lorsqu'il s'agit d'une estimation sur un échantillon et non pas lorsque les analyses ont porté sur l'ensemble de la population [110].

- Soit p la **proportion** déterminée sur un échantillon n de la population N
(Exemple : $p = 0,20$ car sur un échantillon de 100 animaux, 20 ont fourni une réponse positive).

- L'écart-type de cette proportion est : $\sigma = \sqrt{\frac{pq}{n}}$ lorsque $\frac{n}{N} < 10$ p. cent

p : proportion (0 à 1)

q : complément à 1 de la proportion

n : nombre d'unités dans l'échantillon

$$\sigma = \sqrt{\left(1 - \frac{n}{N}\right) \frac{pq}{n}} \quad \text{lorsque } \frac{n}{N} > 10 \text{ p. cent}$$

Conditions d'application* : $np > 5$ $nq > 5$

(Exemple : $\sqrt{\frac{0,2 \times 0,8}{100}} = 0,04$)

- L'intervalle de confiance (IC) à 95 p. cent est : $p \pm 2 \sigma$
(risque d'erreur : 5 p. cent)

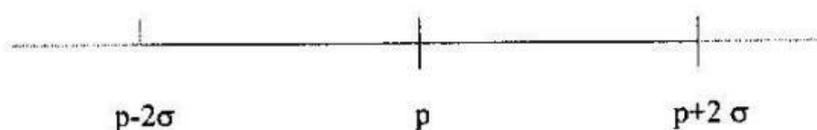


Figure 3 : Méthode de calcul de l'intervalle de confiance [110]

En calculant notre intervalle de confiance, nous avons le résultat suivant :

Sachant que durant la période d'étude (3 mois) il a été capturé environ 1500 chats et que la moitié (750) était des adultes susceptibles d'être incorporés à l'étude, le N devient égal à cette valeur et le n égal à 50, nous aurons donc :

$$P=0,066 ; q=0,934 \quad \sigma=0,1366 ; 2 \sigma =0,2733. \quad \text{IC} = p \pm 2 \sigma = 0,066 \pm 0,2733$$

Si on se réfère à la table de Toma, l'échantillon est compris entre 1153 et 289 sujets pour une prévalence attendue de 25% afin d'avoir une meilleure représentativité, prouvant ainsi un grand intervalle de confiance sachant que nous avons travaillé sur un effectif de 50 sujets ce dernier n'est représentatif que de la population de la fourrière et en aucun cas de la population féline de la commune d'Alger.

7 - Récolte des prélèvements

Les prélèvements sanguins ont été effectués sur les animaux à raison de 6 prélèvements par semaine, de Février 2010 à Mai 2010. Les chiens et les chats prélevés ont été choisis sur la base des signes cliniques qu'ils présentaient, sur la condition qu'ils soient des animaux errants exposés au même risque infectieux sans tenir compte du sexe et tout en préférant les adultes aux sujets jeunes. Après tranquillisation à l'acépromazine (lorsque cela s'avère nécessaire) des prélèvements de sang total sur tube sec sous vide sont réalisés systématiquement.

Sur 5 chats des copeaux de peau sont également réalisés puis étalés sur lame et fixés et, sur 7 chiens des ponctions ganglionnaires sont effectuées. Les échantillons de sang sont conservés au froid avant d'être acheminés au laboratoire de l'université de Blida.

8- Identification des prélèvements

Les tubes de prélèvement de chaque animal sont systématiquement identifiés en y inscrivant la date, l'espèce, le sexe et la race. Une fiche élaborée par nos soins accompagne chaque prélèvement. Celle-ci permet de noter les renseignements sur l'animal ainsi que les éventuelles lésions rencontrées. Au total 50 prélèvements sont réalisés sur chacune des espèces. Chaque échantillon est affecté d'un numéro de 1 à 50 et d'un code CT pour les chats et CN pour les chiens. Les informations recueillies sont représentées dans le Tableau 1 et 2. Les échantillons sanguins sont d'abord soumis au test FLG puis au test Witness. Le sérum est conservé dans des cônes Eppendorf avant d'être congelés à -20 °C pour des tests IFI. Les tests FLG et Witness sont réalisés au fur et à mesure que les échantillons sont acheminés au laboratoire.

9 – Méthodes de laboratoire

9.1. Etude sérologique par le test FLG (Formol Leuco Gélification)

C'est un test non spécifique de réalisation simple permettant de mettre en évidence une hyperprotidémie et l'inversion du rapport Albumine /Globuline. Ce test peut être mis en œuvre en salle de consultation selon la technique de Gate-Papacostas. Il consiste à ajouter 2 gouttes de solution de formol concentré (40%) à 1 ml de sérum suspect. Lors de réaction positive, la solution ainsi formée se gélifie et prend une couleur blanche. Au-delà de 30 minutes le test ne peut être considéré comme positif. (Figure 4).

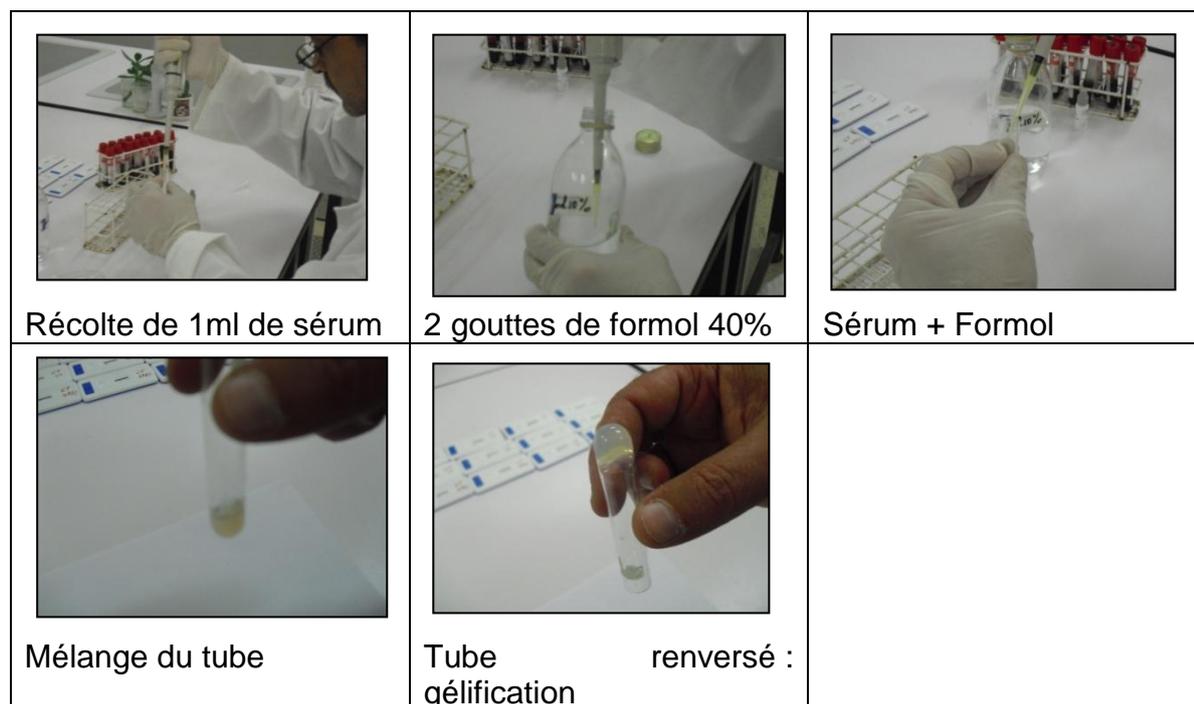


Figure 4 : Test FLG positif

9.2. Etude sérologique par le test WITNESS Leishmania

a- Principe du test

C'est un test de réalisation simple, fondé sur une technique d'immuno-migration rapide (rapid immuno-migration, RIM). L'échantillon à tester contenant les anticorps anti-leishmania (sang total, sérum ou plasma) est mis en contact avec des particules d'or colloïdal sensibilisées. Le complexe ainsi formé migre sur une membrane avant d'être capturé sur une zone réactive, au niveau de laquelle sa concentration provoque la formation d'une bande de couleur rose clairement visible. Une bande de contrôle, située à l'extrémité de la membrane, permet de s'assurer que le test a été réalisé correctement.



Kit Witness leishmania

b. Protocole opératoire (appendice B)

- Placer une plaquette test sur une surface plane.
- Placer 10 μ l de sérum dans le puits échantillon.
- Laisser bien pénétrer l'échantillon dans la membrane.
- Répartir 4 gouttes de la solution tampon (laisser s'imprégner entre chaque goutte).
- Observer au bout de 10 minutes (maximum) la présence ou non de bande de couleur rose dans les fenêtres.

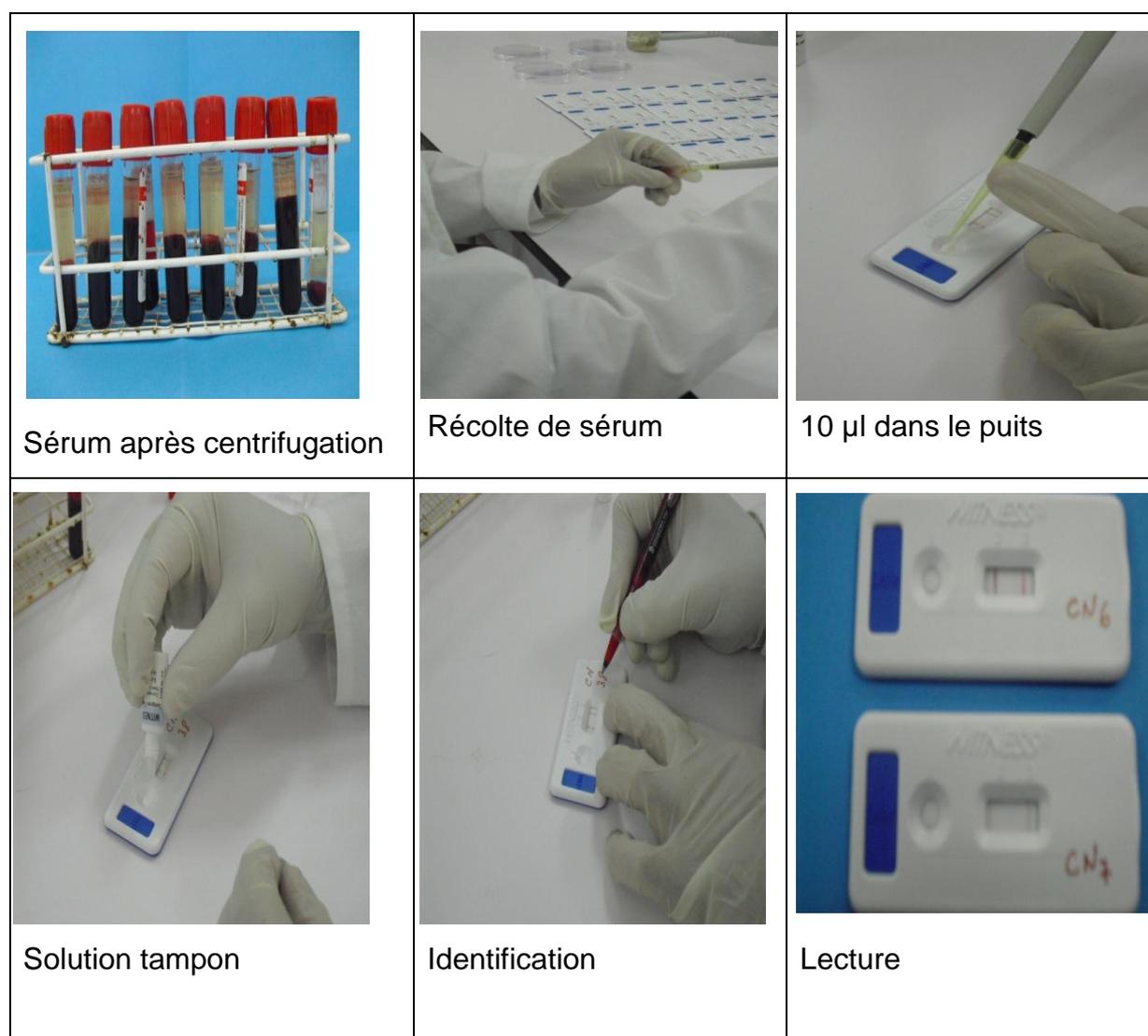


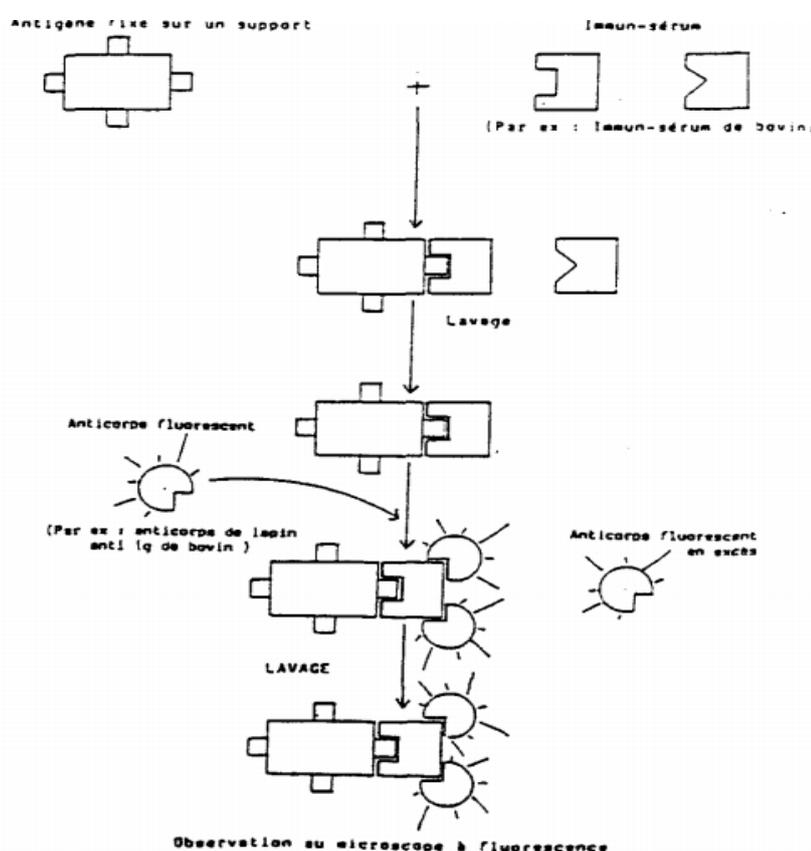
Figure 5 : Mode opératoire de la technique du test Witness

9.3. Etude sérologique par le test d'immunofluorescence indirecte (IFI).

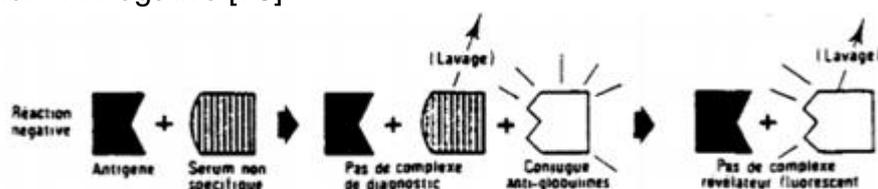
a - Principe de la technique IFI : [77].

L'IFI repose sur la mise en évidence de complexes Ag-Ac grâce au marquage des réactifs immunologiques (Ag) par une substance fluorescente. Les Ac recherchés dans le sérum sont fixés sur l'antigène lui-même fixé sur une lame puis mis en évidence par l'ajout d'anti-gamma globulines spécifiques d'espèce marquées par un fluorochrome.

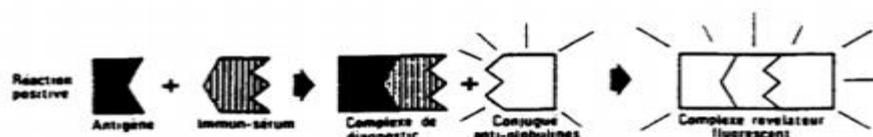
- Principe de la méthode IFI [78]



Réaction IFI négative [78]



Réaction IFI positive [78]



II – RESULTATS

1- Résultats de la pré-enquête

Durant cette étude, des questionnaires élaborés par nos soins (appendice E) ont été distribués à quinze (15) vétérinaires privés installés dans la région d'Alger notamment Delly Ibrahim, Kouba, Birkhadem, ElHarrach, ElBiar, BabaHacene, Cheraga et BéniMessous.

Notre choix s'est porté sur les praticiens dont l'activité dominante est la canine et qui exercent essentiellement en milieu urbain, ces derniers sont quasiment tous généralistes (14) à l'exception d'un spécialiste (chirurgien), leur expérience professionnelle varie de 5 à 20 ans.

Durant l'année 2009 ces vétérinaires ont eu à suspecter la leishmaniose sur 20 cas en moyenne, aucun d'eux n'a évoqué la suspicion de la pathologie chez le chat.

Leur démarche diagnostique est basée sur l'examen clinique de l'animal avec pour signes prédominants chez le chien l'alopécie, l'amaigrissement, les lésions cutanées, les adénopathies et l'épistaxis. L'examen clinique est systématiquement suivi d'un prélèvement sanguin envoyé à l'IPA, quelques rares praticiens utilisent le test d'orientation en l'occurrence la FLG.

Pour le diagnostic épidémiologique, il est surtout tenu compte de leur part des paramètres tels que l'âge et la race.

La majorité des vétérinaires sondés envisagent l'euthanasie de l'animal à quelques rares exceptions qui préconisent un traitement notamment à base d'Allopurinol (disponibilité), et un suivi sérologique.

1/ Etude rétrospective sur l'expérience professionnelle des vétérinaires sondés dans la région d'Alger .

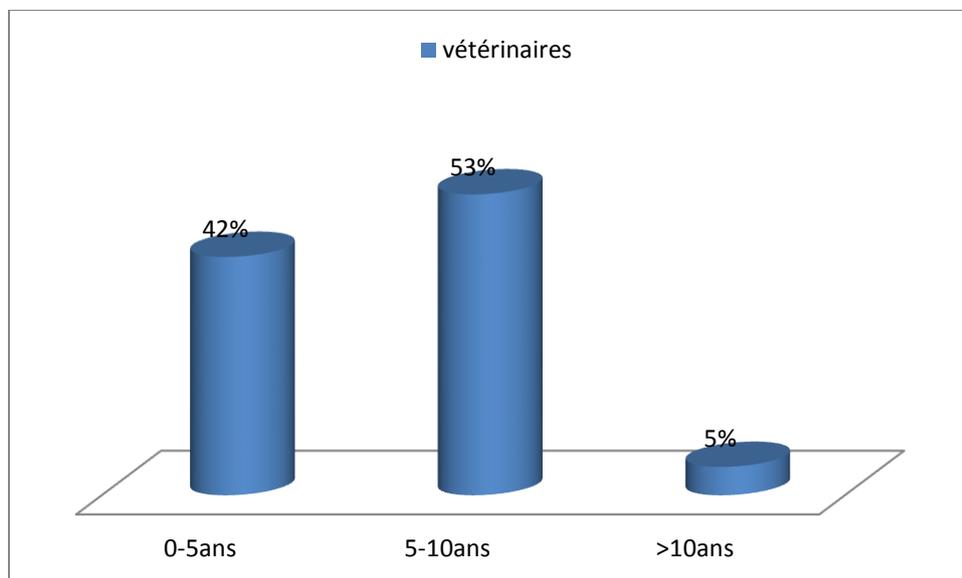


Figure 6 : expérience professionnelle des vétérinaires.

L'enquête sur l'expérience professionnelle des vétérinaires montre qu'une majorité d'entre eux ont plus de 5 ans d'exercice dans la profession ce qui pourrait nous pousser à penser qu'ils ont une connaissance approfondie de la leishmaniose ; il en est de même des 5% possédant plus de 10 ans d'expérience.

2/Etude rétrospective sur la fréquence de la leishmaniose auprès des vétérinaires sondés selon les saisons

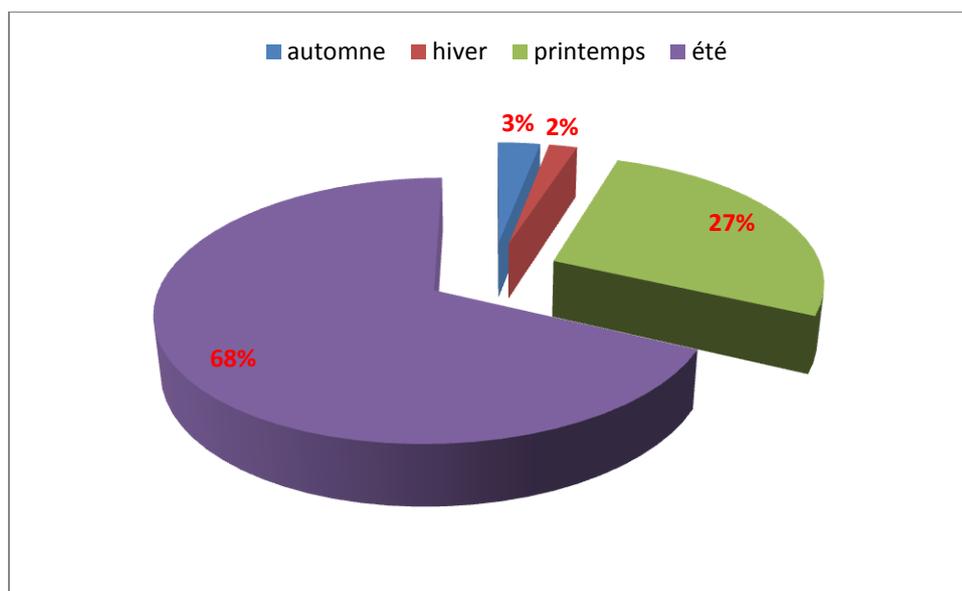


Figure 7 : fréquence de la leishmaniose selon les saisons

L'été semble être la saison où la pathologie est la plus diagnostiquée avec 68% des cas .

3/ Etude rétrospective sur le diagnostic de la leishmaniose

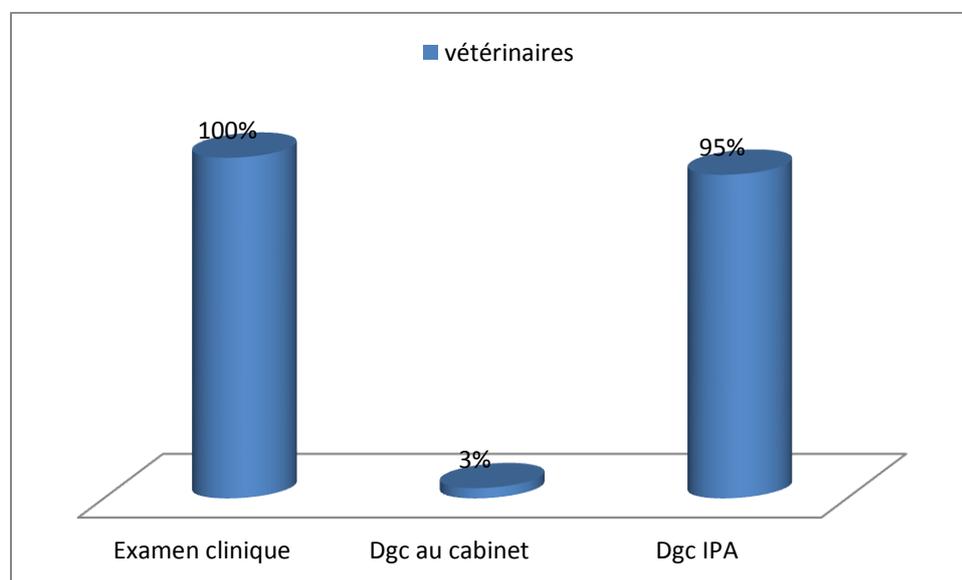


Figure 8 : diagnostic de la pathologie.

L'examen clinique semble être la base du diagnostic de leishmaniose pour les vétérinaires interrogés, en effet 100% d'entre eux estiment que les signes cliniques sont les plus représentatifs de la pathologie ; 3% effectuent un examen d'orientation du type FLG au cabinet et 95% envoient systématiquement des prélèvements sanguins vers une structure spécialisée en l'occurrence l'IPA.

4/Etude rétrospective sur la décision thérapeutique des vétérinaires sondés lors de leishmaniose.

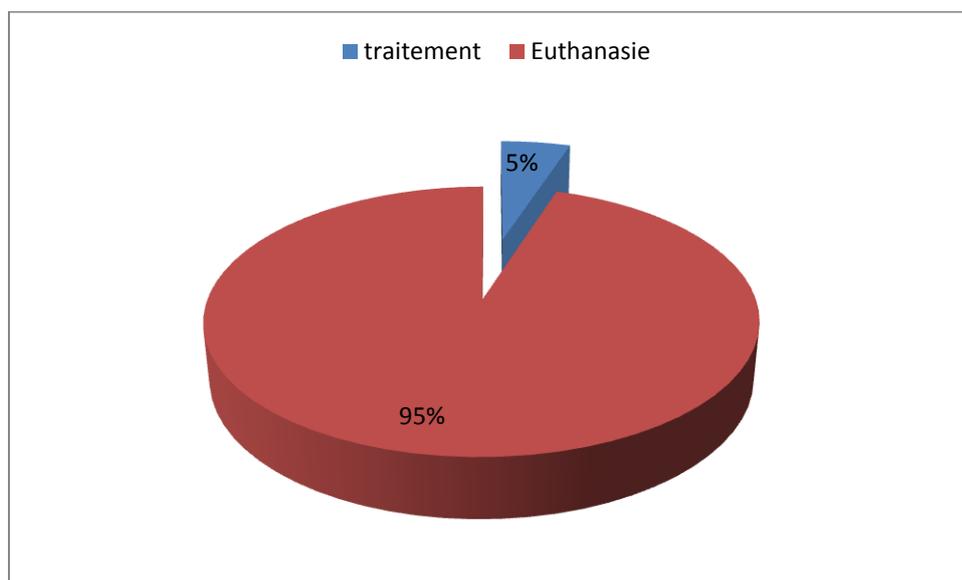


Figure 9 : décision thérapeutique.

95% des vétérinaires devant un diagnostic de certitude de la leishmaniose ont recours à l'euthanasie de l'animal atteint en raison du risque de propagation de la maladie et de la contamination éventuelle du propriétaire lui-même, 5% d'entre eux instaurent un traitement suite à l'insistance du propriétaire.

2-Résultats de l'examen clinique

Les chats et les chiens faisant l'objet de l'étude ont été choisis sur la base des signes cliniques apparents qu'ils présentaient, sur la condition qu'ils soient des animaux errants exposés au même risque infectieux sans tenir compte du sexe tout en préférant les sujets adultes aux sujets jeunes.

Ces animaux ont subi systématiquement un examen clinique basé sur l'observation de l'état général, la prise de température rectale et la fréquence cardiaque.

L'examen clinique rapproché et plus minutieux notamment chez les chiens a montré des lésions apparentes comme les dermatites, les ulcérations, l'Onychogribose, le furfur, le squamosis ou encore la kératite.

Certains animaux ont présenté des lésions encore plus flagrantes comme l'aspect de « vieux chien » qui ne correspondait pas avec l'âge supposé après examen de leur dentition.

Tableau 2 : Signes cliniques des chiens positifs aux tests.

Chiens	Age	Sexe	Race	Signes cliniques
CN1	2 ans	Mâle	Commune	Furfur – Dépilation
CN3	5 ans	Mâle	Commune	Furfur–Dépilation
CN4	4 ans	Mâle	Commune	Dépilation
CN5	5 ans	Mâle	Commune	Onychogriffose-furfur- hyperkératose- aspect vieux chien-squamosis- adénopathie
CN6	3 ans	Femelle	Doberman	Onychogriffose-hyperkératose- épistaxis
CN10	2 ans	Mâle	Commune	Dépilation
CN12	4 ans	Mâle	Commune	Dépilation
CN15	5 ans	Mâle	Commune	Dépilation
CN18	3 ans	Mâle	Commune	Dépilation
CN22	4 ans	Mâle	Commune	Dépilation
CN27	3 ans	Mâle	Commune	Dépilation – furfur
CN28	4 ans	Mâle	Commune	Dépilation –furfur
CN31	6 ans	Mâle	Berger Allemand	Onychogriffose-furfur- dépilation- hyperkératose- aspect vieux chien-squamosis- adénopathie
CN34	8 ans	Mâle	Commune	Dépilation
CN36	5 ans	Mâle	Commune	Sans signes cliniques
CN39	5 ans	Mâle	Commune	Dépilation – furfur
CN42	17 mois	Femelle	Berger Allemand	Onychogriffose-furfur-squamosis- dépilation
CN48	2 ans	Mâle	Rottweiler	furfur- hyperkératose- aspect vieux chien-dépilation-kératite- adénopathie-squamosis
CN49	3 ans	Mâle	Commune	Onychogriffose-furfur- hyperkératose- aspect vieux chien- adénopathie-dépilation épistaxis
CN50	4 ans	Mâle	Commune	Onychogriffose-furfur- hyperkératose- aspect vieux chien- adénopathie-dépilation – squamosis

Tableau 3 : Classement des lésions des chiens positifs.

Chiens	Age	Sexe	Race	Lésions	FLG	Witness	IFI
CN1	2ans	Male	Commune	6-2	+	+	0*
CN3	5ans	Male	Commune	6-2	+	+	0*
CN4	4ans	Male	Commune	6	+	+	0*
CN5	5ans	Male	Commune	1-2-3-4-5-8	+	+	0*
CN6	3ans	Femelle	Doberman	1-3-7	+	+	0*
CN10	2ans	Male	Commune	6	+	+	-
CN12	4ans	Male	Commune	6	+	+	++
CN15	5ans	Male	Commune	6	+	+	-
CN18	3ans	Male	Commune	6	+	+	-
CN22	4ans	Male	Commune	6	+	+	-
CN27	3ans	Male	Commune	6-2	+	+	-
CN28	4ans	Male	Commune	6-2	+	+	+
CN31	6ans	Male	BA	1-2-3-4-5-6-8	+	+	+
CN34	8ans	Male	Commune	6	+	+	-
CN36	5ans	Male	Commune	0	+	+	++
CN39	5ans	Male	Commune	6-2	+	+	-
CN42	17mois	Femelle	BA	1-2-5-6	+	+	0*
CN48	2ans	Male	Rottweiler	2-3-4-5-6-8-9	+	+	0*
CN49	3ans	Male	Commune	1-3-4-2-6-7-8	+	+	0*
CN50	4ans	Male	Commune	1-2-3-4-5-6-8	+	+	0*

Codification des lésions : 0 : sans lésion 1 : Onychogribose 2: Furfur amiantacé 3: hyperkératose 4 : Aspect de « vieux chien » 5: Squamosis 6 : Dépilation 7 : Epistaxis 8 : Adénopathie 9 : Kératite
0* : test IFI non réalisé

Dans le but de faciliter le travail statistique nous avons eu recours à cette codification des lésions retrouvées chez les chiens positifs aux tests effectués.

Nous remarquons que la race commune représente le plus grand nombre de sujets, toutefois des races pures sont également représentées telles que le Berger Allemand, le Rottweiler et le Doberman.

La lésion 6 (dépilation) est la plus retrouvée, un chien s'est avéré positif mais ne présentait aucune lésion, ce dernier a été sélectionné dans le protocole sur le critère de l'âge relativement avancé.

A noter que sur les 50 prélèvements, 36 ont pu être traités les 14 restants dont l'identification a été altérée lors de la décongélation.

Sur les 20 chiens positifs au Witness et FLG, 10 ont été testés par la méthode IFI, parmi cet effectif 4 chiens ont été positifs à des taux variant de 1/20 à 1/160.

A la lecture de ces données, nous ne pouvons pas avancer une corrélation entre les tests Witness et IFI du fait que le seuil de sensibilité du Witness est plus élevé (96,4%).

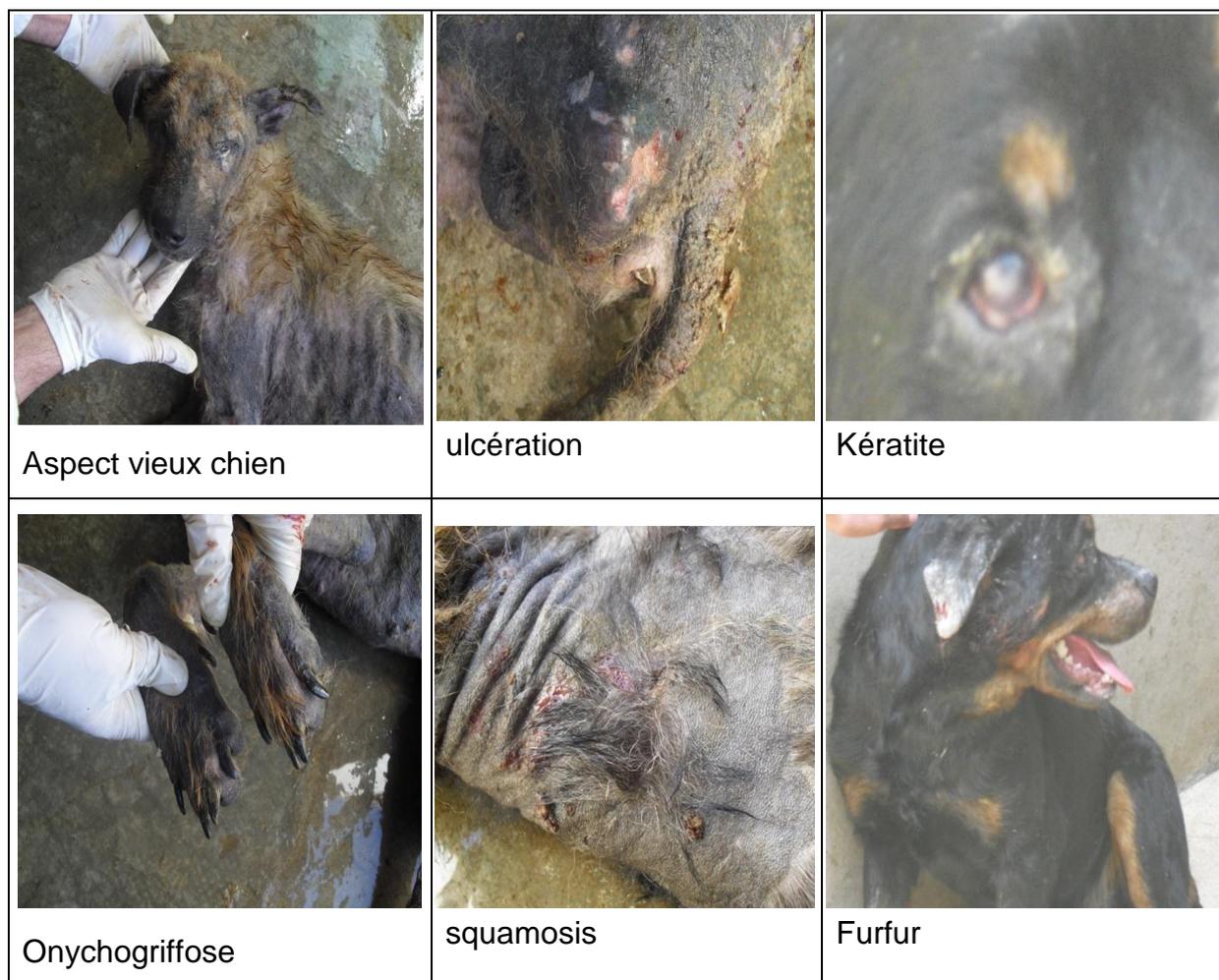


Figure 10 : Lésions chiens

Tous les signes cliniques observés sur les photos (Figure 10) sont typiques de la leishmaniose (aspect de vieux chien, ulcération, kératite, onychogriphose, squamosis et furfur) et sont retrouvés dans la bibliographie.

Les signes cliniques chez les chats ont révélé essentiellement des lésions d'ulcérations et des nodules exclusivement au niveau de la tête avec 5 cas parmi les 18 cas positifs chez qui nous avons remarqué en plus de l'amaigrissement voire de la cachexie et des adénopathies poplités (tableau 4).

Tableau 4: Signes cliniques des chats positifs aux tests

Chats	Age	Sexe	Race	Signes cliniques
CT20	3 ans	Mâle	Commune	Ulcération
CT21	2 ans	Mâle	Commune	Ulcération
CT22	2 ans	Mâle	Commune	Ulcération- cachexie- adénopathie
CT23	3 ans	Femelle	Commune	Ulcération
CT25	4 ans	Mâle	Commune	Ulcération
CT26	3 ans	Femelle	Commune	Ulcération - cachexie- adénopathie
CT27	3 ans	Mâle	Commune	Ulcération
CT29	4 ans	Mâle	Commune	Ulcération
CT30	5 ans	Mâle	Commune	Ulcération
CT31	3 ans	Mâle	Commune	Ulcération - cachexie- adénopathie
CT32	3 ans	Mâle	Commune	Ulcération
CT33	2 ans	Mâle	Commune	Ulcération
CT34	4 ans	Femelle	Commune	Ulcération - cachexie- adénopathie
CT36	2 ans	Femelle	Commune	Ulcération
CT39	2 ans	Mâle	Commune	Ulcération
CT46	1 an	Femelle	Commune	Ulcération
CT48	10 ans	Mâle	Commune	Ulcération – chancre d'inoculation- cachexie- adénopathie
CT49	4 ans	Mâle	Commune	Ulcération – chancre d'inoculation

Tableau 5 : Classement des lésions des chats positifs

Chats	Age	Sexe	Race	Lésions	FLG	Witness
CT20	3ans	Male	Commune	1	+	+
CT21	2ans	Male	Commune	1	+	+
CT22	2ans	Male	Commune	1-3-4	+	+
CT23	3ans	Femelle	Commune	1	+	+
CT25	4ans	Male	Commune	1	+	+
CT26	3ans	Femelle	Commune	1-3-4	+	+
CT27	3ans	Male	Commune	1	+	+
CT29	4ans	Male	Commune	1	+	+
CT30	5ans	Male	Commune	1	+	+
CT31	3ans	Male	Commune	1-3-4	+	+
CT32	3ans	Male	Commune	1	+	+
CT33	2ans	Male	Commune	1-3-4	+	+
CT34	4ans	Femelle	Commune	1	+	+
CT36	2ans	Femelle	Commune	1	+	+
CT39	2ans	Male	Commune	1	+	+
CT46	1ans	Femelle	Commune	1	+	+
CT48	10ans	Male	Commune	2-1-3-4	+	+
CT49	4ans	Male	Commune	2-1	+	+

Codification des lésions : 1: Ulcération
3 : cachexie

2 : Chancre d'inoculation
4 : Adénopathie

Comme pour les chiens une codification des lésions observées s'est avérée nécessaire pour le traitement statistique des données.

L'on peut remarquer la lésion 2 (ulcérations) est la plus rencontrée chez les chats positifs aux tests, viennent ensuite les lésions 1(chancre d'inoculation) , 3(cachexie) et 4(adénopathie).

La race commune est exclusive à ce lot étudié.

Tableau 6 : Pourcentage des lésions par rapport à l'effectif des chats prélevés

Lésions	1	2	3	4
Pourcentage	76%	4%	10%	10%

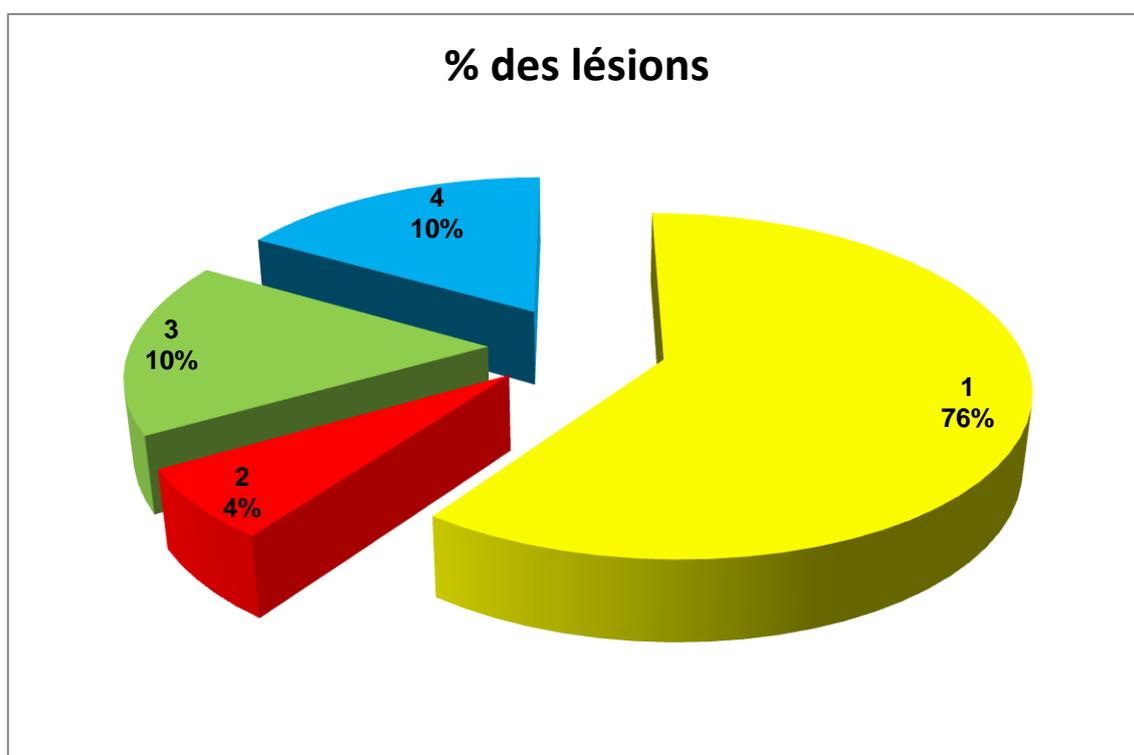


Figure 11 : Distribution des lésions chez les chats.

La lésion 1 (ulcérations) avec un pourcentage de 76 % apparaît comme la plus retrouvée chez les chats positifs aux tests FLG et Witness tandis que la lésion 2 (chancre d'inoculation) est la moins représentée avec un pourcentage de 2% ,les lésions 3 et 4 (cachexie et adénopathie) se rencontrent chez 10% des chats positifs .



Figure 12 : Lésions chats

Les lésions retrouvées chez les chats (photos3) intéressent surtout la face et la tête.

3 – Analyses des prélèvements

Sous forme de tableaux accompagnés de graphes, sont illustrés les différents résultats obtenus suite à l'analyse des sérums de chiens et de chats suspects cliniquement de leishmaniose :

Tableau 7 : Effectifs des chiens prélevés selon âge et sexe (Chiens)

Age	[1-2ans]] 2-3ans]] 3-4ans]] 4-5ans]	>5ans
Mâles	8	13	9	5	5
Femelles	6	3	1	0	0
TOTAL	50				

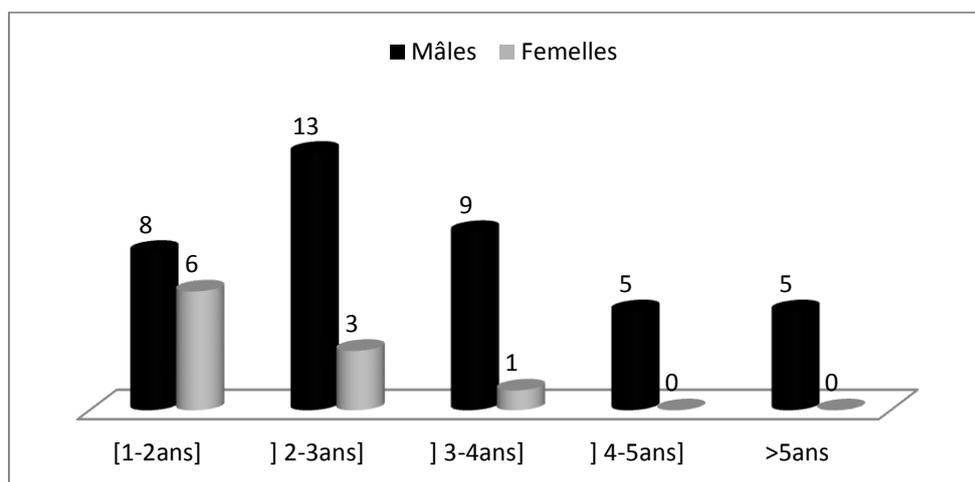


Figure 13 : Représentation des effectifs des chiens prélevés selon l'âge et le sexe

On remarque que sur l'effectif prélevé, les mâles sont les plus nombreux (40 sujets) par rapport aux femelles (10 sujets) Rappelons que l'échantillon était basé sur un tirage au sort ce qui explique cette disparité. Chez les mâles, la tranche d'âge comprise entre 2 à 3 ans est la plus importante, alors que chez les femelles elle concerne surtout les animaux de 1 à 2 ans.

Tableau 8: Effectifs des chats prélevés selon âge et sexe (Chats)

Age	1 -2ans	2 -3ans	3-10ans
Mâles	11	9	6
Femelles	16	4	4
TOTAL	50		

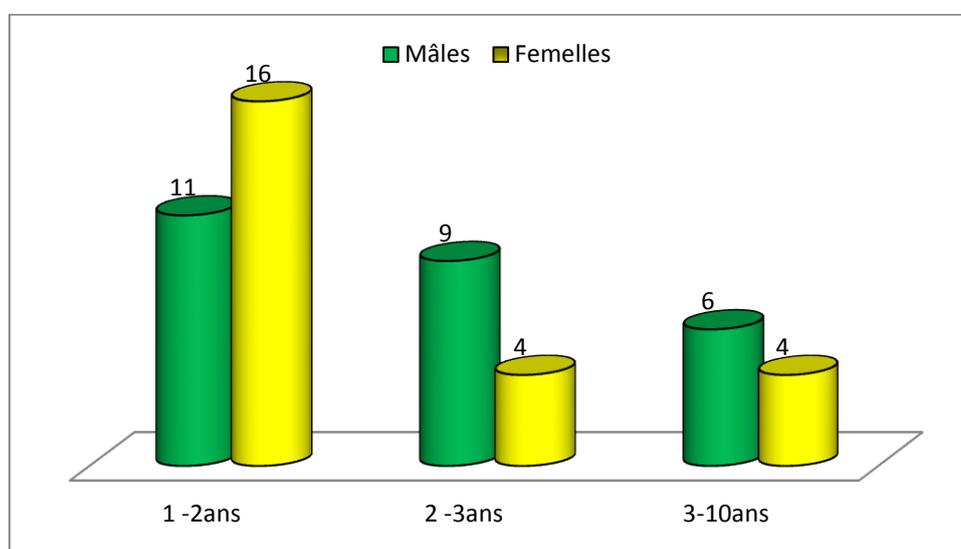


Figure 14 : Représentation des effectifs des chats prélevés en fonction de l'âge et du sexe

Les effectifs sont très proches : 26 mâles et 24 femelles. La tranche d'âge comprise entre 1 à 2 ans est la plus représentée avec 11 femelles et 16 mâles.

Tableau 9: Test FLG & Witness (Chats)

	FLG + Witness+	%	FLG -Witness-	Effectifs
Mâle	13	50%	13	26
Femelle	5	20,83%	19	24
EFFECTIFS	18	36%	32	50

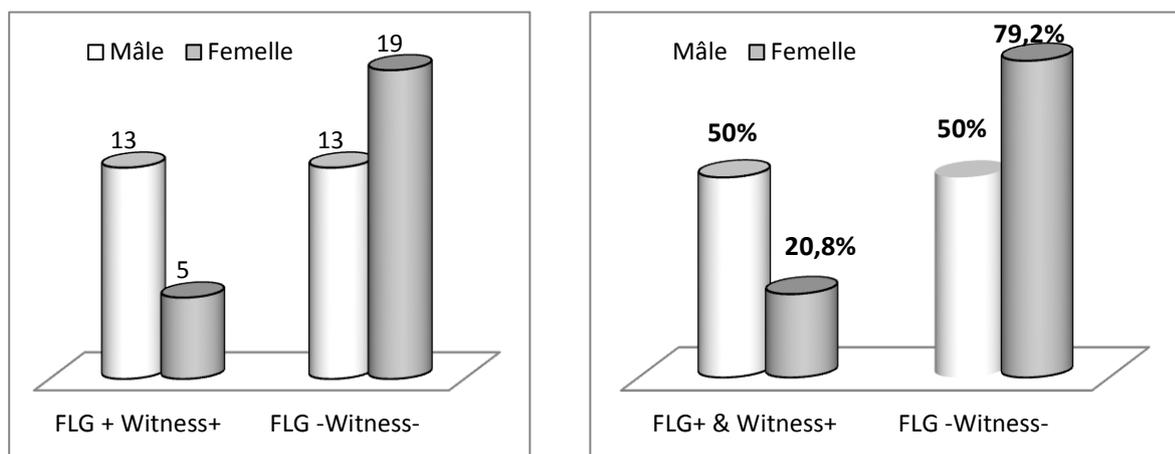


Figure 15- Cas positifs selon le sexe : nombre et fréquence.

Les tests FLG et Witness leishmania font ressortir 13 mâles positifs, soit 50% de l'effectif (26), et 5 femelles soit 20,8% de l'effectif (24).

Tableau 10 : Tests FLG & Witness (Chiens)

	FLG + Witness+	%	FLG -Witness-	Effectifs
Mâle	18	41,86%	25	43
Femelle	2	20,83%	5	7
EFFECTIFS	20	40%	30	50

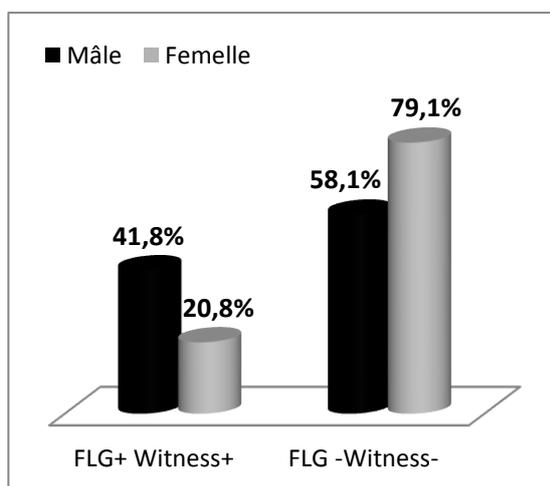
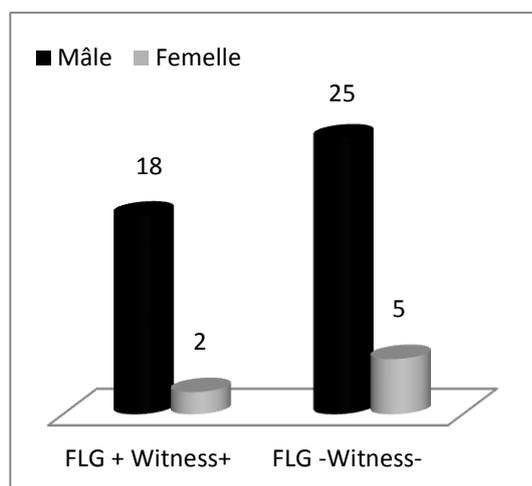


Figure 16 : Nombre des cas positifs selon le sexe Figure 17 : Pourcentage des cas positifs selon le sexe

Les tests FLG et Witness leishmania font ressortir 18 mâles positifs soit 41,8 % de l'effectif (43), et 2 femelles soit 20,83% de l'effectif (7).

Tableau 11: Cas positifs selon le sexe et l'âge (Chats)

Age	1-2ans	%	2-3ans	%	3-10ans	%
Males	4	22,22%	4	22,22%	5	27,77%
Femelles	2	11,11%	2	11,11%	1	5,55%
TOTAL	18					

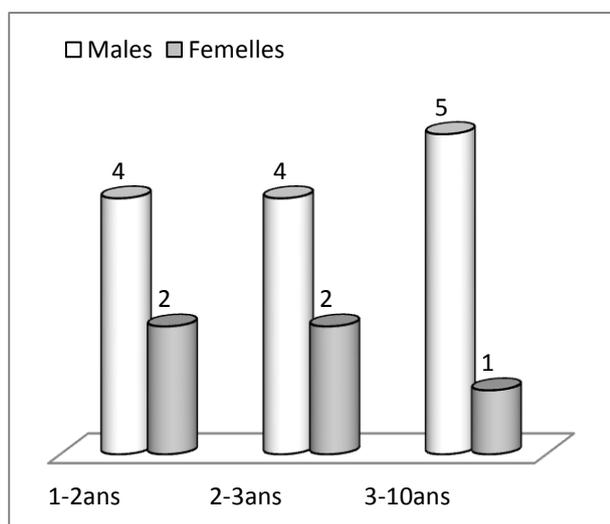


Figure 18: Nombre des cas positifs selon Le sexe et l'âge

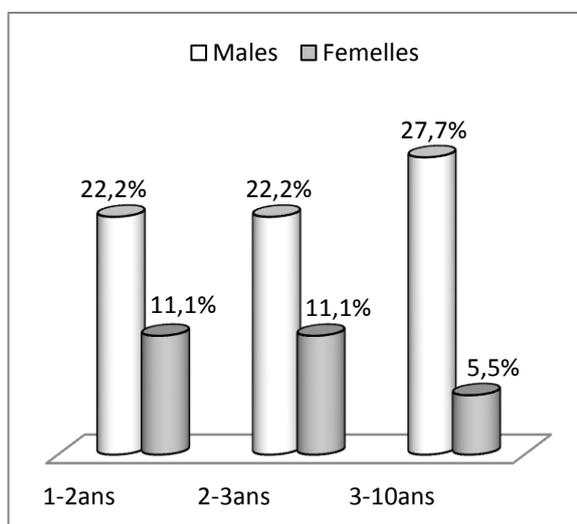


Figure 19 : Pourcentage des cas positifs selon sexe et âge

La tranche d'âge la plus touchée pour les mâles est comprise entre 3 à 10 ans (27,7%) sur un total de 13 mâles. Pour les femelles, les sujets de 1 jusqu'à 3 ans sont les plus atteints avec un taux de 11,1 %. Cela semble diminuer avec l'âge (tranche de 3 – 10 ans ne représentant plus que 5,55 %).

Tableau 12 : Cas positifs selon le sexe et l'âge (Chiens)

Age	1-2ans	%	2-3ans	%	3-4ans	%	≥5ans	%
Males	3	15%	3	15%	5	25%	7	35%
Femelles	1	5%	1	5%	0	0%	0	0%
TOTAL	20							

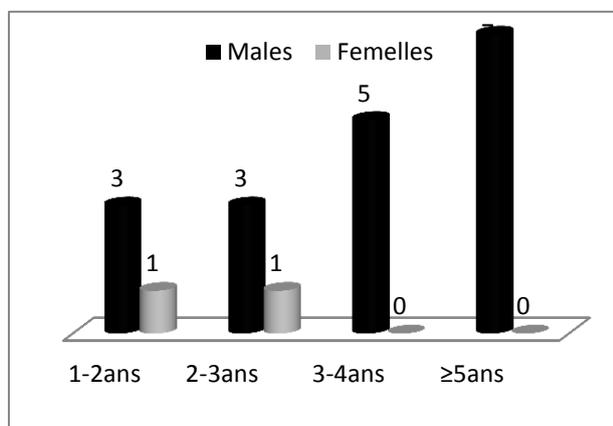


Figure 20 : Nombre des cas positifs selon Age et sexe

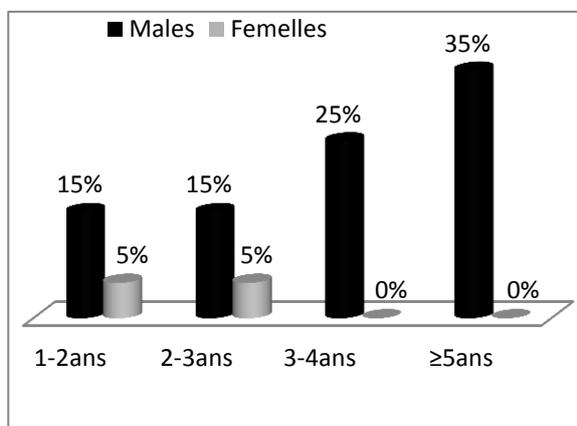


Figure 21 : Pourcentage des cas positifs selon âge et sexe

Contrairement aux chats, il semble que la pathologie évolue avec l'âge notamment pour les mâles. En effet la tranche d'âge supérieure à 5 ans représente le plus fort taux (35 % pour un effectif de 18 mâles).

Tableau 13 : Répartition des lésions selon les cas positifs (Chiens)

Lésions \ Sexe	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Mâles	3	10	5	5	4	16	1	5	1
Femelles	2	1	1	0	1	1	1	0	0

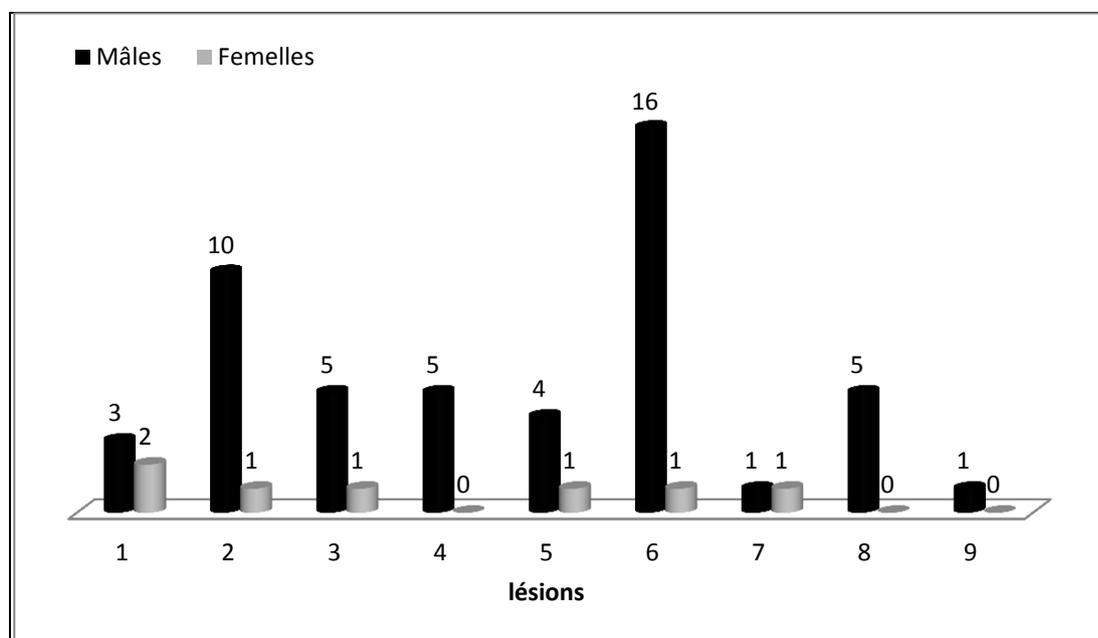


Figure 22 : Répartition des lésions en fonction du sexe (Chiens)

Les chiens « positifs » aux tests FLG et Witness leishmania (Au nombre de 20) ont tous présenté des lésions. Il apparaît que la lésion 6 (Dépilation) représente le plus fort taux notamment chez les mâles.

Tableau 14 : Répartition des lésions selon les cas positifs (Chats)

Lésions \ sexe	1	2
Mâles	11	2
Femelles	5	0

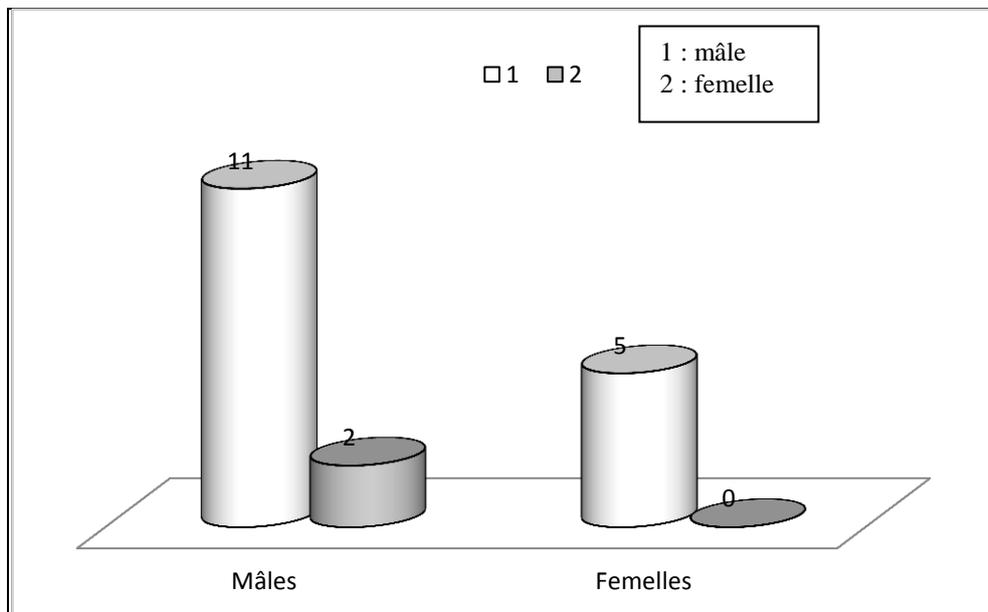


Figure 23 : Répartition des lésions en fonction du sexe (chats)

La lésion 1 (Ulcération) prédomine chez ces sujets positifs aux tests.

Tableau 15 : Distribution des lésions selon la race (Chiens)

Lésions \ Race	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Commune	3	8	3	3	2	14	1	3	0
BA	2	2	1	1	2	2	0	1	0
Doberman	1	0	1	0	1	0	0	0	0
Rottweiler	0	1	1	1	1	1	0	1	1

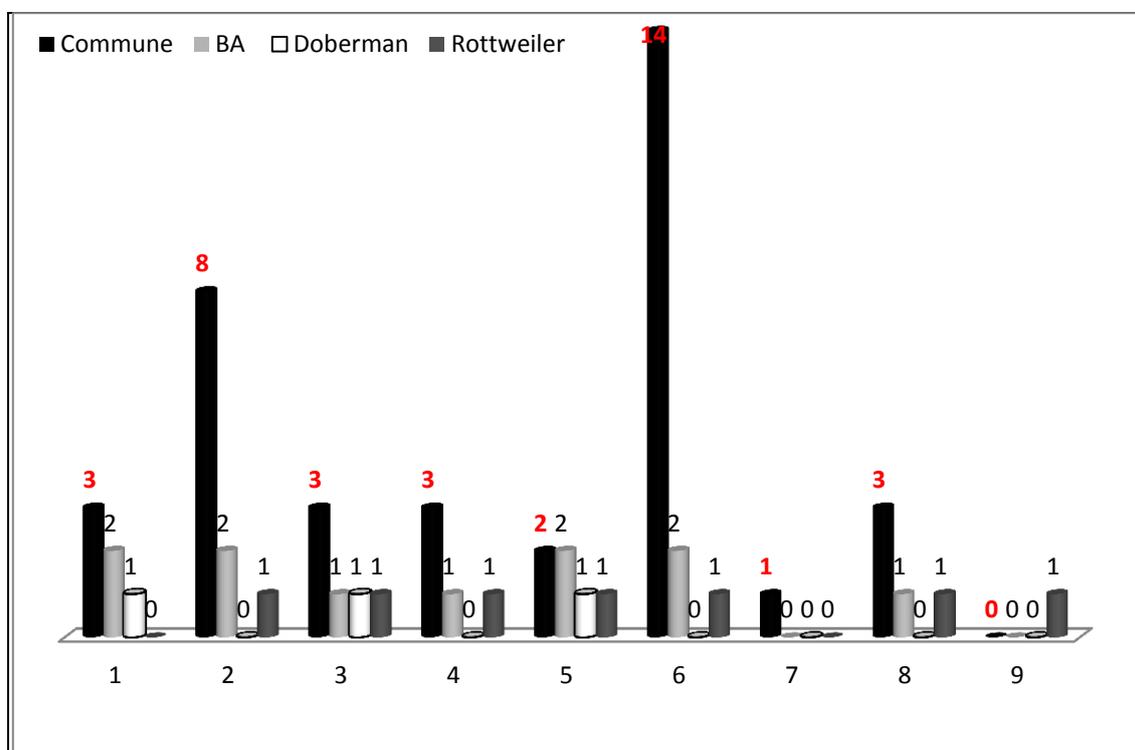


Figure 24 : Répartition des lésions en fonction de la race (Chiens)

La race commune est la plus touchée : ceci étant expliqué par un effectif plus important.

Le nombre total de chiens est le suivant : 40 de race Commune, 05 Berger Allemand, 01 Rottweiler, 01 Doberman, 01 Bichon et 02 races croisées.

4 - Analyses statistiques :

L'étude statistique établie grâce au logiciel Statistica 7.0 de Statsoft Inc., Tulsa, USA consiste à déterminer les éventuelles relations entre :

- Le sexe et les lésions
- La race et les lésions
- L'âge et les lésions

Nous avons systématiquement cherché une corrélation entre les lésions observées et les différents paramètres cités .Pour les cas où le $P < 0.005$ la corrélation est établie.

4.1 – Cas des chats :

Tableau 16 : Répartition des paramètres race, sexe, âge et lésions

		Nombre	Total cumulatif	%	% cumulatif
Race		50	50	100	100
Sexe	Mâle	26	26	52	52
	Femelle	24	50	48	100
Age (mois)	Total	50	50	Moy : 30.94	
	Mâle	26	26	Moy : 34.61	
	Femelle	24	24	Moy : 27.00	
Lésions	0	32	32	64	64
	1-2	2	34	4	68
	1	16	50	32	100

Le tableau 15 est une analyse descriptive de l'échantillon des chats prélevés au niveau de la fourrière HURBAL, il fait ressortir que l'échantillon est assez homogène dans la mesure où les femelles sont aussi nombreuses que les mâles respectivement 24 et 26, la moyenne d'âge est de 30.94 mois pour les mâles et de 27.00 mois pour les femelles, la lésion 1 (ulcérations) est celle qui est la plus retrouvée avec 16 sujets atteints .

Tableau 17 : Cas positifs selon le sexe

	Witness -	Witness +	Total
Mâle	13	13	26
Femelle	19	5	24
P	0.0318		

Il existe un lien légèrement significatif entre la présence de lésions et le sexe (P=0.0318).

Les paramètres FLG et Witness positifs se retrouvent significativement beaucoup plus chez les mâles que chez les femelles (+3,6 et P< 0,05). (appendice F)

4.2 -Cas des chiens

Tableau 18 : Répartition des paramètres race, sexe, âge et lésions

		Nombre	Total cumulatif	%	% cumulatif
Race	1	40	40	80	80
	2	5	45	10	90
	3	1	46	2	92
	4	1	47	2	94
	5	2	49	4	98
	6	1	50	2	100
Sexe	Mâle	43	43	86	86
	Femelle	7	50	14	100
Age		50	50	Moy : 56.90	100
Lésions	0	29	29	58	58
	1	1	30	2	60
	6	9	39	18	78
	6-2	5	44	10	88
	1.2.3.4.5.8	1	45	2	90
	1.2.3.4.5.6.8	2	47	4	94
	1.2.5.6	1	48	2	96
	2.3.4.5.6.8.9	1	49	2	98
	1.3.4.2.6.7.8	1	50	2	100

Le tableau 17 montre que l'échantillon étudié était composé en majorité de chiens de race commune (40 sujets) ce qui est inévitable à la méthode du tirage au sort ainsi qu'au fait que cette race forme l'essentiel de cette population de chiens errants ; les mâles sont beaucoup plus nombreux que les femelles (43 et 7 respectivement), la moyenne d'âge est de 56,90 mois ; la lésion 6 (dermite) est la plus retrouvée.

Tableau 19 : Cas positifs selon les lésions

Witness/FLG	Nbre lésions : 0	Nbre lésions : 1	Nbre lésions : 2	Nbre lésions :3 et +	Total
+	1	8	5	6	20
-	28	2	0	0	30
Khi ²	39.31				
P	0.00000				

L'analyse statistique a révélé une corrélation hautement significative (P=0,00000) entre la présence de lésions et la positivité des tests FLG et Witness.(appendice F).

DISCUSSION

Méthode d'échantillonnage

Nôtre travail a été axé sur les animaux errants capturés par les services de la fourrière d'Alger, cette méthode de travail a constitué un biais en soi dans la mesure où nous ne pouvions effectuer un suivi clinique et biologique des animaux dont les prélèvements se sont avérés positifs puisqu'ils étaient sacrifiés après leur capture ; le but étant de calculer des prévalences chez chaque espèce (chiens et chats) à un temps donné et sur une période relativement courte (3 mois).

L'activité du phlébotome étant maximale durant les périodes chaudes les animaux sont plus exposés en été et développent une immunité (dont nous ignorons la durée chez le chat) après contact avec les leishmanies.

Notre étude s'est étalée de Juillet 2009 (début de l'enquête) à Mai 2010 avec une fréquence de deux sorties par semaine.

L'échantillon choisi a porté sur 50 chats errants et dans le souci de comparer 2 espèces, 50 chiens errants ont aussi été prélevés, ces derniers reconnus comme réservoir principal de la leishmaniose, le but étant de faire un parallèle entre 2 espèces exposées au même risque infectieux.

Il faut noter que parmi l'échantillon des 50 chiens, 10 d'entre eux sont des chiens de race (Berger Allemand, Doberman, Bichon, Rottweiler, et Berger Allemand croisé) abandonnés par leurs maîtres ce qui peut encore une fois constituer un biais à l'étude car nous ignorons depuis combien de temps ces animaux se sont retrouvés errants.

Soulignons enfin un dernier biais à l'étude qui est matérialisé par la non disponibilité au niveau de l'IPA (Institut Pasteur d'Alger) d'immunoglobulines anti leishmaniennes spécifiques au chat pour l'examen IFI (immuno fluorescence indirecte).

Examen clinique

L'examen clinique a fait ressortir des lésions assez « pathognomoniques » de la leishmaniose chez les chiens notamment les dépilations, l'amaigrissement et les adénopathies, ce qui se rapporte aux travaux de Tulasne L [113] qui décrit les symptômes les plus fréquemment rencontrés chez le chien dans le sud de la France et qui sont successivement les lésions dermatologiques, l'amaigrissement, l'anorexie, les lymphadénopathies, les lésions oculaires, l'épistaxis, l'abattement, l'anémie et l'insuffisance rénale.

Pour les chats, nous n'avons retrouvé que des signes cutanés (ulcères et chancre d'inoculation sous forme de nodules) exclusivement au niveau de la tête par contre Venet B [4] révèle en plus des lésions citées plus haut des atteintes des membres sous forme de dermatites ulcéralives ainsi que des lésions dans la région lombaire, le thorax et l'abdomen, toutefois l'auteur fait remarquer que dans 69% des cas les lésions restent localisées à la face de l'animal.

Nous avons pu constater aussi sur certains sujets (5 sur 18) des signes de cachexie et d'amaigrissement et d'adénomégalie (au niveau des ganglions poplités) ce qui se rapporte aux travaux de Venet B à Toulon [4] qui retrouve ce type de lésions mais à une fréquence plus élevée (6 cas sur 10).

Sérologie

Le dépistage par sérologie présente le gros avantage d'utiliser un prélèvement facile à réaliser pour les vétérinaires praticiens. Le choix de cette méthode reste discutable : une séropositivité à un instant t n'est que le témoin d'un contact plus ou moins récent entre l'animal et le parasite. Cette technique ne permet pas de présager de la présence et de l'état infectieux des leishmanies chez le chat. [4]

Les chats prélevés et testés par la technique FLG ont été tirés au sort, on peut dire qu'il y a eu parité entre les sexes des animaux constituant l'échantillon dans la mesure où les mâles constituaient 52% tandis que les femelles constituaient 48% de cet effectif, il semble que les mâles soient plus touchés que les femelles avec des pourcentages respectifs de 50% (13 cas positifs) et 20,83% (5 cas positifs). Il en est de même pour la technique du Witness.

Tous les chats ayant fait l'objet de l'étude sont des animaux errants donc vivants à l'extérieur, la séropositivité chez ces sujets est supérieure à celle de chats vivant à l'intérieur Ozon et al 1999.

La prévalence calculée chez cette espèce révèle un taux de 36 % ce qui se rapproche des travaux de Venet 2007 qui a signalé une prévalence de 38,46 % sur un échantillon de 26 chats.

Les disparités entre les prévalences retrouvées chez le chat sont nombreuses selon les années, les méthodes de diagnostic sérologique utilisées et enfin le statut immunitaire des animaux testés (chats atteints de FeLV et de FIV) ; ainsi des auteurs tels que Michael et al 1982 signale une prévalence de 3,75% sur un effectif de 80 chats en Egypte, Ozon et al en 1999 retrouvent un taux de 12,4% sur 97 chats et Pennisi et al en 2000 une prévalence de 68 % sur un effectif de 97 chats .Il faut souligner que les méthodes de diagnostic sérologique ont évolué avec les années et avec l'avènement de la biologie moléculaire, les résultats sont devenus plus pointus avec des méthodes telle que la PCR (Polymérase Chain Reaction) .

Sur les chats étudiés grâce aux tests FLG et Witness en comparant les taux par rapport au sexe ,on remarque que les mâles représentent 50% sur un effectif de 26 chats testés et les femelles 20,83 % sur un effectif de 24 sujets testés .

En s'intéressant aux lésions cutanées relevées sur les chats testés positifs ,nous remarquons que sur un total de 18 sujets positifs ,tous présentaient des lésions avec une prédominance de lésion de type ulcération (16 chats) notamment au niveau de la tête (chanfrein ,oreille),dans cet effectif les mâles(11) sont à peu près deux fois plus nombreux que les femelles (5) ,les sujets avec 2 lésions sont au nombre de 2 (tous deux des mâles),Pennisi 1999 dans le sud de l'Italie fait remarquer le même type de lésions successivement sur une femelle de 14 ans avec ulcération au niveau de la lèvre supérieure et un mâle adulte présentant un chancre d'inoculation au niveau du canthus externe de l'oreille gauche ;après examen cytologique des lésions et des nœuds lymphatiques des deux chats ,l'auteur a pu mettre en évidence des formes amastigotes de leishmania et des titres positifs à l'IFI à *L.infantum* .

Deux autres chats ont fait l'objet d'une étude par le même auteur en Pennisi

2001 ;un mâle de 6ans bagarreur ,présentant une chorioretinite et une femelle de 10 ans avec sang et fibrine au niveau de la chambre antérieure des 2 yeux ,les 2 sujets ont été positifs à la toxoplasmose et à la FIV ainsi qu'à la leishmaniose .toujours Pennisi en 2009 ,18 cas ont présenté des lésions cutanées sous forme de d'alopécie de dermatite ulcéralive et de nodules.

En étudiant les facteurs âge et sexe par rapport à la positivité aux tests FLG et Witness des sujets étudiés, il en ressort que toutes tranches confondues (1-2ans ,2-3ans ,3-10ans, mâles et femelles) les mâles paraissent à chaque fois plus sensibles à la pathologie que les femelles.

Ces résultats ne corroborent pas ceux rapportés par Pennisi 2002 qui sur une étude menée sur une population de 89 chats a trouvé un taux de 61% grâce à la méthode PCR avec respectivement 73 % de femelles et 54 % de mâles.

L'âge par contre semble influencer sur l'apparition de la maladie, en effet à la lecture des résultats la tranche d'âge de 3ans jusqu'à 10 ans apparaissent comme les plus touchés avec 27,77% des mâles positifs ceci est similaire aux travaux de Venet 2007 qui conclut à une plus longue exposition.

Le facteur race n'a pas été étudié car l'échantillon choisi ne représentait qu'une seule race en l'occurrence la race commune ,Pennisi 2002 fait remarquer que sur 89 chats faisant l'objet de son étude 61 % étaient de race commune et 39 % de race connue ,toutefois ce facteur n'a eu aucune influence sur son travail .Des cas de race connue (siamois) sont ponctuellement décrits Bosselut 1948 et Bergeron 1927 .

Pour les chiens, l'échantillon était composé en majorité de mâles (86%) par rapport aux femelles (14%), ce facteur est inérant à la méthode d'échantillonnage puisque les sujets étudiés ont été tirés au sort, les animaux testés grâce aux méthodes FLG et Witness ont montré des taux positifs respectifs de 41,86% pour les mâles et 28,57% pour les femelles. Rappelons que les effectifs dans ce cas étaient de 43 mâles et 7 femelles. Au vu des résultats des tests, nous serions tentés d'annoncer que les femelles seraient plus sensibles à la pathologie que les mâles. La prédominance des mâles est marquée mais cette différence n'est pas significative comme rapporté par Bouratbine et al (en Tunisie) [111].

L'étude des signes cliniques fait ressortir une prédominance des dépilations [111] ceci ne corrobore pas les résultats de Halloin E (sud de la France) [112] qui rapporte une prédominance des adénopathies chez les chiens examinés.

Il faut souligner enfin que l'étude du facteur race n'a rien ramené de significatif sachant que les chiens de race pure comme le Berger Allemand, le Rottweiler ou le Doberman ne constituaient qu'un nombre restreint de l'échantillon respectivement 4,1 et 1, l'étude de Bouratbine [111] fait par contre ressortir la sensibilité des races pures à la pathologie.

Nous avons essayé d'enrichir ce travail par une étude statistique grâce au logiciel Statistica 7.0 afin de trouver des corrélations entre la positivité des animaux testés et des paramètres tels que l'âge, la race, le sexe et les lésions observées.

Il est à noter que l'échantillon testé lors de notre enquête composé de 50 sujets pour chaque espèce ne pouvait être représentatif pour un travail de ce genre mais le but initial était d'étudier 2 espèces soumises au même risque infectieux par l'utilisation d'un test de diagnostic rapide, nous ne disposions à cet effet que d'un coffret de 100 plaques qui a eu pour conséquence de limiter l'échantillon.

Les résultats ont fait ressortir qu'il existe une corrélation entre les tests FLG et Witness et le sexe ($P \leq 0.05$) pour les deux espèces (chiens et chats).

Les P calculés ont à chaque fois été non significatifs et supérieurs à 0,05, sauf pour la relation établie entre les tests et l'âge, ainsi on peut observer chez les chats concernant la tranche d'âge que ceux âgés de 1-3 ans femelles semblent les plus touchés par la pathologie ; les mâles de 3 à 10 ans sont aussi plus touchés ceci étant expliqué par le fait qu'ils représentent un pourcentage plus important dans l'effectif prélevé et dans l'effectif des chats positifs ce qui ne corrobore pas les résultats de Pennisi 2002 pour qui les femelles sont plus atteintes que les mâles. Pour ce qui concerne les lésions, les ulcérations représentent un taux plus élevé car ce type de lésion est le plus souvent rencontré par rapport au chancre d'inoculation.

L'étude statistique a permis aussi pour l'espèce canine d'établir un P hautement significatif (≤ 0.001) entre les sujets présentant des lésions et les tests positifs FLG et Witness auxquels ils ont été soumis, les autres paramètres étudiés

tels que le sexe, la race ou encore l'âge n'ont pas permis d'établir de relation entre la positivité de ces animaux et ces paramètres.

Dans la même espèce nous avons procédé à une analyse des sérums par la méthode sérologique IFI (immunofluorescence indirecte, méthode de référence de l'OIE), les résultats ont donné un nombre de chiens positifs de l'ordre de 8 ce qui n'est pas en relation avec la méthode Witness qui retrouve 20 sujets positifs cette divergence des résultats est à mettre sur le compte de 2 facteurs :

- Des sérums acheminés par nos soins au niveau de l'IPA ont été détériorés lors de la décongélation ce qui n'a pas permis l'analyse de plusieurs d'entre eux qui provenaient de chiens qui paraissaient cliniquement hautement atteints de leishmaniose.
- Le seuil de positivité adopté par l'IPA est de 1/80 alors que le test Witness leishmania serait plus sensible et détecterait la présence d'anticorps à un seuil beaucoup plus bas (sensibilité du Witness 100%) [114].

Des études récentes menées par Marty et al [116] sur l'utilisation de tests rapides de diagnostic de la leishmaniose (IT-Leish et ID-PaGIA) a démontré que la sensibilité de ces tests est de 97% alors que celle de l'IFI est de 91%.pour notre part nous avons utilisé le Witness leishmania dont la sensibilité est de 100% [114].la spécificité des tests étudiés par Marty et al est de respectivement 98% et 94% tandis que celle du Witness est de 96,4%[114].

Pour McGill University Centre of Tropical Diseases [115] la sensibilité de la méthode IFI est supérieure à 90% lors de leishmaniose viscérale et plus faible encore lors de leishmaniose cutanée.

Par la suite nous avons calculé la valeur prédictive positive (VPP) selon la formule suivante :

$$\text{VPP} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FP}}$$

VPP= valeur prédictive positive

VP= vrais positifs

FP= faux positifs

$$\text{VPP} = 15/15+3 = 83,33\%$$

Les VP (vrais positifs) sont les plaques sur lesquelles les deux traits étaient apparents tandis que les FP (faux positifs) sont les plaques sur lesquelles le deuxième trait était moins perceptible et qui étaient au nombre de trois (3).

La valeur calculée est à rapprocher de celle retrouvée par Marty et al [116] qui ont trouvé une valeur de 89% pour le test IT-Leishmania mais elle est supérieure à celle du test d'ID-PaGIA qui est de 75 %.

Pour le calcul de la valeur prédictive négative VPN nous avons utilisé la même formule que pour la VPP :

$$\text{VPN} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FN}}$$

VPN= valeur prédictive négative

VN= vrais négatifs

FN= faux négatifs

$$\text{VPN} = 32/32+2 = 94,11\%$$

Les faux négatifs sont les sujets dont les signes cliniques sont évocateurs de la leishmaniose mais dont le test s'est avéré négatif.

Ces résultats sont identiques à ceux de Marty et al [116] qui retrouvent une VPN de 94% et permettent donc d'exclure d'emblée et rapidement une étiologie leishmanienne devant une lésion cutanée assez évocatrice.

En conclusion de ce chapitre, nous pouvons dire que le test Witness leishmania reste un test qualitatif, facile d'utilisation, rapide et que ses résultats doivent à chaque fois être confirmés par la méthode de référence qui est l'IFI.

CONCLUSION

Lors de notre étude, la bibliographie a montré que le chat est une espèce réceptive dans beaucoup de cas à la leishmaniose.

Des questions restent toutefois posées quant à cette réceptivité et aux facteurs de cette dernière ?

Peut-on proposer l'hypothèse selon laquelle le chat constitue un réservoir accessoire ou autre à la propagation (surtout en zone d'endémie) de cette pathologie ? Quel est le véritable rôle de cette espèce ? L'importance de ce réservoir n'est peut être pas encore bien mesurée.

Le questionnaire distribué par nos soins aux vétérinaires praticiens semble affirmer l'inexistence de cas de leishmaniose féline dans la région d'Alger, ce constat est pour notre part à mettre sur le compte non seulement de la rareté des cas de leishmaniose féline mais aussi sur une méconnaissance clinique de la maladie et surtout en faveur d'un sous diagnostic fréquent.

La leishmaniose féline devrait à notre sens être à chaque fois suspectée, surtout en zone d'endémie, face à des chats présentant des lésions évocatrices de la pathologie notamment des nodules et des ulcères surtout localisés à la face.

Notre travail a permis de découvrir 18 chats séropositifs à la leishmaniose grâce au kit de diagnostic rapide « Witness leishmania » sur la cinquantaine qui constituaient l'échantillon, cette découverte laisse supposer un contact entre ces chats errants et les leishmanies dans la région étudiée.

Le diagnostic de la leishmaniose féline est complexe, d'autant que la méthode utilisée lors de notre étude ne permet qu'une suspicion de la maladie. Ce travail gagnerait à être poursuivi en utilisant des méthodes de diagnostic sérologiques plus performantes telle que la PCR et/ou Western Blot afin d'affiner le diagnostic et par là présenter un intérêt en médecine vétérinaire compte tenu de l'importance de la maladie, mais également en médecine humaine sachant que la leishmaniose est une zoonose grave prenant de plus en plus d'ampleur dans notre pays l'Algérie.

RECOMMANDATIONS

A l'issue de ce présent travail qui s'est avéré être une source d'enseignements divers et riches dans le vaste domaine de ce que l'on pourrait qualifier aujourd'hui de « leishmaniologie » tant la pathologie prend de l'ampleur à l'échelle mondiale et surtout en zone d'endémie qu'elle en devient une des préoccupations majeures d'organisations telle que l'OMS (organisation mondiale de la santé) , nous souhaiterions proposer en toute modestie quelques recommandations à l'attention d'abord des vétérinaires praticiens qui sont confrontés à cet épineux problème devenu de santé publique , puis aux laboratoires qui sont l'élément incontournable pour le diagnostic de la pathologie et enfin à l'université entre du savoir .

Toutes les publications et les travaux menés sur la leishmaniose s'accordent à révéler que cette pathologie en Algérie et ailleurs a pour principal réservoir le chien domestique , nous recommandons à l'issue de notre étude de diversifier les axes de recherche en axant le travail sur d'autres sources du parasite chez d'autres espèces qui sont restées jusque là insoupçonnées voire totalement ignorées ; le chat jusqu'à ce jour n'a jamais fait l'objet de travaux dans ce sens , nous sommes certains que d'autres espèces peuvent avoir aussi un intérêt (rongeurs etc.)

Ces espèces peuvent selon la littérature héberger le parasite et constituer ainsi un réservoir non négligeable créant ainsi une diversité de porteurs, le chat se retrouvant ainsi un « suspect » pour le vétérinaire praticien dans le portage de la leishmaniose quand bien même celui-ci ne serait que réservoir accessoire, des lésions de type ulcération surtout au niveau de la tête devraient faire suspecter la pathologie et exiger un suivi plus rigoureux notamment sérologique.

La seconde recommandation est à l'attention des laboratoires tels que l'IPA (institut Pasteur d'Alger) spécialisés dans le dépistage sérologique de la leishmaniose , ils devraient à notre sens disposer de tous les moyens susceptibles de leur permettre le diagnostic de la maladie tels que les immunoglobulines antileishmaniennes pour toutes les espèces autres que l'homme et le chien , des kits de diagnostic rapide devraient être aussi testés , homologués et vulgarisés par leurs soins pour permettre une meilleure prise en charge de la zoonose .

Enfin à l'université et spécialement au département vétérinaire de la FAVB (faculté agrovétérinaire et biologie) de Blida , nous recommandons l'élaboration d'une base

de données relative à la leishmaniose par le biais de travaux de PFE (projet de fin d'études) ,de Magister et autres sur toutes les espèces autres que le chien capables de par la bibliographie d'être des sources du parasite ,ces travaux pourraient ne pas être cantonnés aux espèces domestiques mais s'élargir aussi à la faune sauvage vu la diversité de cette dernière et la proximité d'un parc national . De plus les travaux menés devraient utiliser des outils de diagnostic encore plus performants notamment grâce à la biologie moléculaire avec des méthodes telles que la PCR (polymérase chain reaction) ou le Western Blot dont devrait être équipé le laboratoire de biotechnologie du département vétérinaire afin de mieux identifier l'agent causal.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Mancianti.F « Feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Italy” Vet. Parasitol., 107, (7), 120-131. (2004)
2. Euzeby.J « *Leishmanioses ; histoires naturelles*» Médecine et Armées, 22, (1), 11- 14.(1994)
3. Desjeux. P « La lutte contre les maladies tropicales: la leishmaniose », Revue de l’OMS, Genève, 53 p. . (1993).
- 4 .Venet.B : « La leishmaniose féline : Dépistage en région Toulonnaise » .ENVL. Thèse de docteur vétérinaire.(2007).
5. Bussiéras. J ; Chermette. R. « Parasitologie vétérinaire». Fascicule 4. Entomologie. Polycopié. ENVA, Service de Parasitologie. 163p. (1991)
6. Handman E. “Leishmania virulence: it’s a knock out !” Trends Parasitol, 17(2) : 60. (2001).
7. Berenguer.J., Gomez-Campdera. F., Padilla. B., Rodriguezferrero.M., Anaya. F., Moreno. S., Valderrabano. F. “Visceral leishmaniasis (Kala-Azar) in transplant recipients: case report and review. Transplant., 65(10), 1401-1404. (1998).
8. Cruz. I., Nieto.J., Moreno. J., Canavat. C., Desjeux. P., Alvar.J. “Leishmania/HIV co-infections in the second decade”. Indian J. Med. Res, 123,357-388. . (2006).
9. Molina. R., Lohse. J. M., Pulido. F., Laguna. F., Lopez-Velez. R.,Alvar J. “Infection of sand flies by humans coinfectd with *Leishmania infantum* and Human Immunodeficiency Virus”. Am. J. Trop. Med. Hyg., 60(1),51-53. (1999).
10. Bettini S., Gradoni L., “Canine leishmaniasis in the Mediterranean area and its implications for human leishmaniasis”. Insect. Sci. Applic., 7 : 241-245. (1986).
11. Rioux J.A., Golvan Y.J. « Epidémiologie des leishmanioses dans le sud de la France ». Monographie de l’institut national de la santé et se la recherche médicale n°37. (1969).
12. Dunan S., Mary C., Garbe L., Breton Y., Olivon B., Ferrey P. , Cabassu J.P. « A propos d’un cas de leishmaniose chez un chat de la région marseillaise ». Bull. Soc. Fr. Parasitol., 7 : 17-20. (1989).
13. Kirkpatrick C.E., Farrell J.P. ,Goldschmit M.H.” *Leishmania chagasi* and *L.Donovani* : esperimental infections in domestic cats”. Exp. Parasitol., 58 : 125-131. (1984).

14. Morillas-Marquez F., Benavides Delgado I., Gonzalez Castro J., Reyes Magana A. Valero Lopez A. « Découverte de Leishmania sp. dans des Rattus rattus de la Province de Grenade (Espagne) ». *Annls Parasi. hum. comp.*, 60 : 768-770.(1985).
15. Bonfante-Garrido. R., Urdaneta.I., Urdaneta.R.,Daneta. R., Alvarado. J, “*Natural infection of cats with Leishmania in Barquisimeto, Venezuela*” .*Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 85, (1), 53. (1991).
16. Barnes.J.C., Stanley.O., Craig.T.M., “Diffuse cutaneous leishmaniasis in a cat” *J. Am Vet. Med. Assoc.*, 202, (3), 416-418. (1993).
17. Pennisi. M.G. “*A high prevalence of feline leishmaniosis in southern Italy* Proceedings du 2^{ème} forum international sur la Leishmaniose canine”, Seville, Espagne, 6-9 février 2002, 39-48. (2002).
- 18.Passos. V.M.A., Lasmar. E.B., Gontijo.C.M.F., Fernandes.O., Degrave.W.”Natural infection of a domestic cat (*Felis domesticus*) with *Leishmania (Viannia)* in the Metropolitan Region of Belo Horizonte. State of Minas Gerais, Brazil *Mem. Inst.Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* , 91,(1), 19-20. (1996)
19. Schubach.T.M.P., Figueiredo. F.B., Pereira.S.A., Madiera M.F., Santos.I.B., Andrade .M.V., Cuzzi.T., Marzochi.M.C.A., Schubach.A., “American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro. Brazil: first report of natural infection with *leishmania(Viannia) braziliensis*” *tran. R. Soc. Trop. Med.Hyg.*, 98,(3), 165-167. (2004).
20. Ozon. C., Marty.P., Pratlong.F., Breton.C., Blein.M., Lelievre A., Haas P.”Disseminated feline leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in Sowthern France” *Vet. Parasitol.* 75,(2-3), 273-277. (1998)
- 21.Grevot A., JaussaudHugues P., Marty P., Pratlong F., Ozon C., Haas P., Breton C., Bourdoiseau G., “Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods” . *parasite*, 12, (3), 271-275. (2005).

22. Poli A., Abramo F., Barsotti P., Leva S., Gramiccia M., Ludovisi A., Mancianti F. « Feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Italy » *Vet. Parasitol.*, 106, (3), 181-191.(2002).
23. Maroli M., Pennisi M.G., Di Muccio T., Khoury .C., Gradoni L., Gramiccia M.” Infection of sandflies by a cat naturally infected with *leishmania infantum*”. *Vet. Parasito.*, 145 (3-4), 357-360 . (2007).
24. Savani E.S., De Oliveira Camargo M.C., de Carvalho M.R., Zampieri R.A., Dos Santos M.G., D’Auria S.R., Shaw J.J., Floeter-Winter L.M. “The first record in Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felis catus*) from Cotia Country , Sao paulo State, Brazil .*Vet. parasitol.*, 120, (4), 229-233. (2004).
25. Pennisi M.G., « *Feline leishmaniosis* Proceedings de la 3^{ème} journée d'actualités sur la Leishmaniose », Nice, France, 23 Septembre 2006, 19-20. (2006).
26. Chauve C. « Maladies parasitaires du système des phagocytes mononuclés ». Cours magistral de parasitologie de la 2^{ème} année de 2^{ème} cycle . ENVL. (2004).
27. Dedet J.P., Pratlong F., “*Point épidémiologique sur les foyers d'endémie leishmanienne en Europe* Proceedings de la 1^{ère} journée d'actualités sur la Leishmaniose », Nice, France, 23 Septembre 2006, 9. (2006)
28. Killick-Kendrick R., Killick-Kendrick M. “*Biology of sand fly vectors of Mediterranean canine Leishmaniasis*”s. Barcelona, Spain : Proceeding of International Canine Leishmaniasis Forum, Canine Leishmaniosis : an update, pp. 26-31. (1999).
29. Killick-Kendrick R. “The Biology and Control of Phlebotomine Sand Flies. *Clinics in Dermatology*”, 17, pp. 279-289. (1999).

30. Simoes-Mattos L., Mattos M.R.F., Teixeira M.J., Oliveira-Lima J.W., Bevilaqua C.M.L., Prata-Junior R.C., Holanda C.M., Rondon F.C.M., Bastos K.M.S., Coelho Z.C.B. Coelho I.C.B., Barral A., Pompeu M.M.L. "The susceptibility of domestic cats (*Felis catus*) to experimental infection with *Leishmania braziliensis*" *Vet. Parasitol.*, 127, (3-4), 199-208. (2005).
31. Bourdoiseau G. « *Etiologie-Pathogenie de la leishmaniose canine et feline* » CES de dermatologie, session VI. (2002).
32. Drapier S. « *Revue bibliographique sur la leishmaniose feline* » Memoire du CES de dermatologie, session VI, 80p. (2003).
33. Craig T.M., Barton C.L., Mercer S.H., Droleskey B.E., Jones L.P. "Dermal leishmaniasis in a Texas cat" *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 35, (6), 1100-1102. (1986).
34. Fournet A. « Alerte à la leishmaniose ». *Le Nouvel Observateur*, n°2260, 88-89. (2008).
35. Bourdoiseau G, Dénerolle P, Chabanne L. »La leishmaniose du chien en questions ». *Le Point Vét.*, 39, 51-53. (2008).
36. Bussiéras J, Chermette. « Parasitologie vétérinaire ». Fascicule 2. Protozoologie. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Service de Parasitologie. 186p. . (1992)
37. Silva FL., Oliveira RG., Silva TM, Xavier MN., Nascimento EF., Santos RL."Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis ». *Vet. Parasitol.*, 160, 55-59. (2009).
38. Ferrer LM." Clinical aspects of canine leishmaniasis. In : *Canine leishmaniasis* : an update. Barcelona, Spain, 1999. Wiesbaden : Hoechst Roussel Vet, 6-9. (1999).
39. Meunier A. « Etude épidémiologique de la leishmaniose canine et de l'influence des facteurs environnementaux en France depuis 1965, dans le sud-ouest en 2006 ». Thèse Méd. Vét., Lyon, 106p. (2007).

40. Mary C., Bastien P. « *La biologie moleculaire au service des leishmanioses* Proceedings de la 3^{ème} journée d'actualités sur la Leishmaniose », Nice, France, 23 Septembre 2006, 16-18.(2006).
41. Martin-Sanchez J.,Acedo C.,Munoz-Perez M., Pesson B., Marchal O., Morillas-Marquez F. « *Infection by Leishmania infantum in cats: Epidemiological study in Spain*”Vet. Parasitol., 2007, 145 (3-4), 267-273. (2007).
42. Laruelle-Magalon C., Toga I. « *Un cas de leishmaniose féline* »Prat. Med. Chir. Anim. Comp., 31, (3), 255-261. (1996).
43. Marechal M. « *La leishmaniose féline, cas sporadique ou réalité encore ignorée ? Etude dans la region marseillaise* ». (1993)
44. Gholam H.R .Seyed J.A.Quasem A.Esmael .F.Seyed.M. »first report infection in cats with Leishmania Infantum in Iran « Vector-Borne and Zoonotic Diseases 10(3)313-316 (2010)
45. Anjili C.O., Githure J.I. “Refractoriness of domestic cats to infection with a Kenyan strain of Leishmania donovani” East Af. Med. J., 70, (5), 322. (1993).
46. Ozon C., Marty P., Lelievre A., Biogalli J., Corniglion A., Giacomo A., Lamothe .I. « Le chat, réservoir de *Leishmania infantum* dans le Sud de la France » Proceedings du 24^{ème} congres WSAVA, Lyon, France, 23-26 septembre 1999, CD. (1999).
47. Vita S., Santori D., Aguzzi I., Petrotta E., Luciani A. « Feline *Leishmaniasis and Ehrlichiosis* : Serological investigation in Abruzzo Region » Vet. Res. Commun, 29 (suppl. 2), 319-321. (2005).
48. Solano-Gallego L., Rodriguez-Cortes A., Iniesta L., Quintana J., Pastor J., Espada Y., Portus M., Alberola J. “Cross-sectional serosurvey of feline *leishmaniasis* in ecoregions around the northwestern Mediterranean” Am. J. Trop. Med. Hyg., 2007, 76, (4), 676-680. (2007).

49. Maroli M., Pennisi M.G., Di Muccio T., Khoury C., Gradoni L., Gramiccia M., "Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*" Vet. Parasitol., 145 (3-4), 357-360. (2007).
50. Hervas J., Chacon-M., De Lara F., Sanchez-Isarria M.A., Pellicer S., Carrasco L., Castillo J.A., Gomez-Villamandos J.C. « Two cases of feline visceral and cutaneous leishmaniosis in Spain" J. Feline Med. Surg., 1, (2), 101-105. (1999).
51. Rufenacht S., Sager H., Muller N., Schaerer V., Heier A., Welle M.M., Roosje P.J. "Two cases of feline leishmaniosis in Switzerland" .Vet. Rec., 156, (17), 542-545. (2005)
52. Grevot A, Jaussaud Hugues P., Marty P., Pratlong F., Ozon C., Haas P., Breton C., Bourdoiseau G. "Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and Fe1V positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods" Parasite, 12, (3), 271-275. (2005).
53. Leiva M., Lloret A., Pena T., Roura X. "Therapy of ocular and visceral leishmaniasis in a cat" Vet. Ophthalmol., 8, (1), 71-75. (2005).
- 54 .Gramiccia M., Gradoni L. "The current status of zoonotic leishmaniases and approaches to disease control". *International Journal of Parasitology.*, Vol. 35, pp. 1169-1180. (Octobre 2005).
55. Bongiorno G., et al. "Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus og canine leishmaniasis in central Italy". *Acta Tropica.*, Vol. 88, pp. 109-116.(2003).
56. Buffet P. "Traitement des leishmanioses". DIU Physiopathologie & Thérapeutique en maladies infectieuses . IP Paris. Mai 2007.
- 57.Beugnet F., Boulouis H-J., Chabanne L., Clement M-L., Davoust B., Haddad N.. « Leishmaniose générale du chien à *Leishmania infantum* ».Dépêche vét.,supplément technique, 99, 36-41. (2006)
58. Blavier A.,Keroack S., Denerolle P., Goy-Thollot I., Chabanne L., Cadoré J-L., Bourdoiseau G.. Atypical forms of canine leishmaniosis. Vet. J., 162, 108-120. (2001)

59. Bourdoiseau G.. Chapitre 13 : Maladies parasitaires disséminées, la leishmaniose. In : Parasitologie clinique du chien, Ed.NEVA, Créteil, 325-362.19 (2000)
60. Lamothe J., Ribot X.. Leishmanioses : actualités. Bull. bimestr. Soc.vét. prat. Fr., 88, 24-44. (2004)
61. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.. Site Vet-lyon, Dermatologie parasitaire du chien. AdresseURL : http://www2.vet-lyon.fr/etu/dermato/maladies/leish_mala.htm .(2008)
62. Amara A., Abdallah H. B., Jemli M. H., Rejeb A.. “Les manifestations oculaires chez les chiens leishmaniens. » Point vét., 235, 50-55. (2003)
63. Prianti M. G., Yokoo M., Saldanha L. C. B., Costa F. A. L., Goto H. “*Leishmania chagasi*-infected mice as a model for the study of glomerular lesions in visceral leishmaniasis.” Braz. J. med. biol. Res., 40(6), 819-823. (2007).
64. Adamama-Moraitou K. K., Rallis T. S., Koytinas A. F., Tontis D.,Plevraki K., Kritsepi M.. “Asymptomatic colitis in naturally infected dogs with *Leishmania infantum* : a prospective study”. Am. J. Trop. Med. Hyg.,76(1), 53-57. (2007)
65. McConkey S. E., Lopez A., Shaw D., Calder J..” Leishmanial polyarthritis in a dog”. Can. vet. J., 43, 607-609. (2002)
66. Diniz S. A., Melo M. S., Borges A. M., Buenor R., Reis B. P., Tafuri W.L., Nascimento E. F., Santos R. L.. « Genital lesions associates with visceral leishmaniasis and shedding of *Leishmania* sp. In the semen of naturally infected dogs”. Vet. Pathol., 42, 650-658. (2005)
67. Vinuelas J., Garcia-Alonso M., Ferrando L., Navarrete I.,Molanob I., Miron C., CarcelenJ.,Alonso C., Nieto C. G. “Meningeal leishmaniosis induced by *Leishmania infantum* in naturally infected”.Vet. Parasitol., 101, 23–27. (2001).
68. Pennisi M.G., “*Case report of Leishmania spp, infection in two cats from the Aeolian archipelago (Italy)*” Proceedings du 24^{ème} congrès WSAVA, Lyon, France, 23-26 septembre 1999, CD. (1999)
69. Papierok GM. « Diagnostic biologique de la leishmaniose canine et perspectives ». Nouv. Prat. Vét., 159, 65-68. (2002).
70. /Keck N. » Diagnostic de laboratoire de la leishmaniose canine. Leishmaniose canine : Surveillance, diagnostic, traitement, prophylaxie ». Résumés. Lyon : Société Française de Parasitologie,. (2004)
71. Hubert B. » Comment diagnostiquer la leishmaniose canine ». Le Point Vét., 270, 54-59. (2006).

72. Lamothe J, Gaudray C, Zarka P. "Diagnostic de la leishmaniose canine ». *Prat. Méd. Chir. Anim. Cie*, 39, 41-46. (2004).
73. Hebert F., « *Tableaux étiologiques, in: Guide Pratique de médecine interne canine et féline* » MED'COM, Paris, 456p. (2002)
74. Lapouge V., Site de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, [en ligne] Adresse URL : <http://www.vet-lyon.fr/etu/dermato/index.htm/> (2006).
75. Gradoni L., « *Diagnostic : les nouvelles techniques* » Action Vet. Ed. Sp6., (leishmaniose), 6-9. (2002).
76. Boari A., Vita S., Petrotta E., Lucian A., Britti D. "*Feline leishmaniasis : serological investigation in Abruzzo* ".Proceedings du 3^{ème} congrès mondial sur la Leishmaniose, Palermo-Terrasini, Italie, 15 avril 2005, 115. (2005).
77. Charrol P. « Contribution à l'étude du diagnostic immunologique de la leishmaniose canine ». Thèse de doctorat vétérinaire, faculté Paul Sabatier, Toulouse, 175pp. (1989).
78. Ambroise-Thomas P., Golvan Y.J. « Les nouvelles techniques en parasitologie et immunoparasitologie ». Flammarion Médecine-Sciences, 298pp. (1994).
79. Lemahieu JC. « Le système immunitaire : organes, cellules et molécules ». *In : Cours d'immunologie PCEM 2*. (2004)
80. Mossalayi M .D., Appriou M. « Intérêt du monoxyde d'azote dans la défense anti-parasitaire des macrophages humains ». *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 138, 7-17. (1999)
81. Baneth G. "Pathoimmunology of canine leishmaniasis". PROC 14th ECVIM-CA Congress, Barcelona . (2004)
82. Moreno J. "Changing views on Langerhans cell functions in leishmaniasis". *Trends Parasitol.*, 23, 86-88. (2007).

83. Euzeby J. « Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire ». Paris : Lavoisier, 818p. . (2008)
84. Roitt IM., Brostoff J., Male D K. « Immunité vis-à-vis des protozoaires et des Helminthes ». In : Immunologie. 3^{rded}. Bruxelles : De Boeck-Wesmael, 16.1-16.22. . (1993)
85. Alexander J., Bryson K. "T helper (h)1/Th2 and Leishmania" : paradox rather than paradigm. Immunol., 99, 17-23. (2005).
86. Alexander J, McFarlane E. "Can type-1 responses against intracellular pathogens be T helper 2 cytokine dependent ?" Microbes Infect, 10, 953-959. (2008).
87. Noben-Trauth N. "Susceptibility to Leishmania major infection in the absence of IL-4". Immunol. Lett., 75, 41-44. (2000).
88. Mendez S., Reckling SK., Piccirillo CA., Sacks D., Belkaid Y. "Role for CD4+CD25+ regulatory T cells in reactivation of persistent leishmaniasis and control of concomitant immunity". J. Exp. Med., 200(2), 201-210. (2004).
89. Rodrigues O.R., Marques C., Soares-Clemente M., Ferronha M.H., Santos-Gomes G M. « Identification of regulatory T cells during experimental Leishmania infantum infectio ». Immunobiology, 214, 101-111. (2009).
90. Pinelli E., Rutten VPMG., Ruitenber EJ. « Cellular immune responses in canine leishmaniasis ». In : Canine leishmaniasis : an update. Barcelona, Spain, 1999.
91. Pinelli E., Killick-Kendrick R., Wagenaar J., Bernadina W., del REAL G., Ruitenber J. "Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with Leishmania infantum". Infect. Immun., 62, 229-235. (1994).
92. Cardoso L., Neto F., Sousa JC., Rodrigues M., Carbal M. "Use of a leishmanin skin test in the detection of canine Leishmania-specific cellular immunity". Vet. Parasitol., 79(3), 213-220. (1998).
93. Cardoso L., Schallig HDFH., Cordeiro DA., Silva A.,Cabral M., Alunda JM., Rodrigues M." Anti-Leishmania humoral and cellular immune responses in naturally infected symptomatic and asymptomatic dogs". Vet. Immunol. Immunopathol., 117, 35-41. (2007)
94. Barbieri CL. "Immunology of canine leishmaniasis". Parasite Immunol., 28, 329-337. (2006).
95. Carrillo E., Moreno J. "Cytokine profiles in canine visceral leishmnaniasis". Vet. Immunol. Immunopathol., 128, 67-70. (2009).

96. Ji J., Masterson J., Sun J., Soong L. "CD4+CD25+regulatory T cells restrain pathogenic responses during *Leishmania amazonensis* infection". *J. Immunol.*, 174, 7147-7153. (2005)
97. Nieto CG., Garcia-Alonso M., Requena JM., Miron C., Soto M., Alonso C. "Analysis of the humoral immune response against total and recombinant antigens of *Leishmania infantum* : correlation with disease progression in canine experimental leishmaniasis". *Vet. Immunol. Immunopathol.* 67, 117-130. (1999)
98. Iniesta L., Gallego M., Portus MI. "Diotype expression of IgG1 and IgG2 in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*". *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 119, 189-197. . (2007).
99. Almeida MAO., Jesus EEV., Sousa-Atta MLB., Alves LC., Berne MEA., Atta AM. "Antileishmanial antibody profile in dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*". *Vet. Immunol.*, 106, 151-158. (2005).
100. Day MJ. "Immunoglobulin G subclass distribution in canine leishmaniasis : a review and analysis of pitfalls in interpretation". *Vet. Parasitol.*, 147, 2-8. (2007)
101. Andrade BB., Oliviera CI., Brodskyn CI., Barral A, Barral-Netto M. « Role of sand fly saliva in human and experimental leishmaniasis” : current insights. *Scand. J. Immunol.*, 66, 122-127. (2007).
102. Titus RG., Bishop JV., Mejia JS. "The immunomodulatory factors of arthropod saliva and the potential for these factors to serve as vaccine targets to prevent pathogen transmission". *Parasite Immunol.*, 28, 131-141. (2006).
103. Rohousva I., Volf P. "Sand fly saliva : effects on host immune response and *Leishmania* transmission". *Folia Parasit.*, 53(3), 161-171. (2006).
104. Bourdoiseau G., Dénerolle P. « Traitement de la leishmaniose canine : actualités ». *Revue Méd. Vét.*, 151, 395-400. (2006).
105. Marty P., Ozon C., Rahal A, Garti-Toussant M., Lelievre A., Izri MA . « Leishmaniose dans les Alpes-Maritimes. Caractéristiques épidémiologiques actuelles ». *Méd. Armées*, 22, 29-31.(1994).
106. Michael SA., Morsy TA., Abou El-Seoud SF., Saleh MSA. « Leishmaniasis antibodies in stray cats in Ismailiya Governorate, Egypt. *Journal of Egyptian Society of Parasitology*, 12-283-286. (1982).
107. Bourdoiseau G. "Parasitologie Clinique du chien " Créteil : NEVA, 456p. (2000)
108. Tulasne L. « Actualités dans la lutte contre la leishmaniose canine ». Thèse doctorat vétérinaire ENVA. (2005).
109. Bosselut H « Un cas de leishmaniose générale du chat ». *Archives de l'IPA.* 26 :14.(1948).

110. Toma B., Dufour B., Sanaa M., Bénet J.J., Shaw A., Moutou F., Louza A. Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. (2001).

111. A. Bouratbine , K. Aoun , M. Gharbi , N. Haouas , J. Zaroui , Z. Harrat , H. Baba et M.A. Darghouth : »données épidémiologiques, cliniques et parasitologiques sur la leishmaniose générale canine en Tunisie ». (2005).

112 .Halloin E «étude épidémiologique de la symptomatologie de la leishmaniose canine dans le sud de la France « thèse de doctorat vétérinaire ENVL. (2008).

113 .Tulasne .L « Actualités dans la lutte contre la leishmaniose canine dans le sud de la France « thèse de doctorat vétérinaire ENVL (2009).

114 .Woodley Equipment Company Ltd Witness®Leishmania (2007).

115. McGill University Centre of Tropical Diseases. (2005).

116 .Marty.P,Delaunay.P,Fissore.C,LePichoux.Y “la leishmaniose méditerranéenne due à *Leishmania infantum* ,mise au point-intérêt des tests de diagnostic rapide : IT-LEISH® et ID-PAGIA ®Leishmaniasis (2007).

Appendice A - Leishmaniose canine : Expression clinique

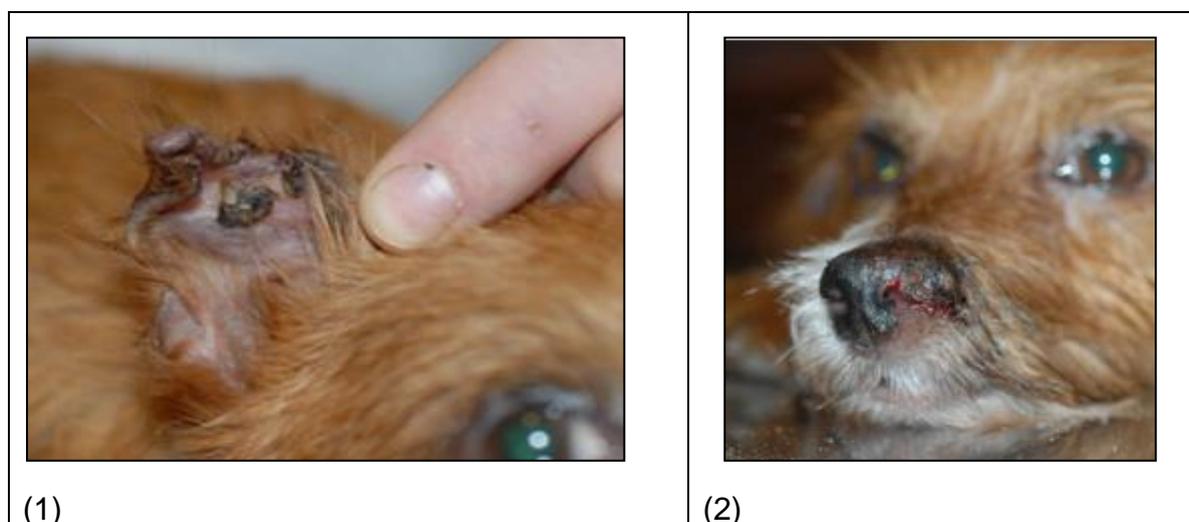


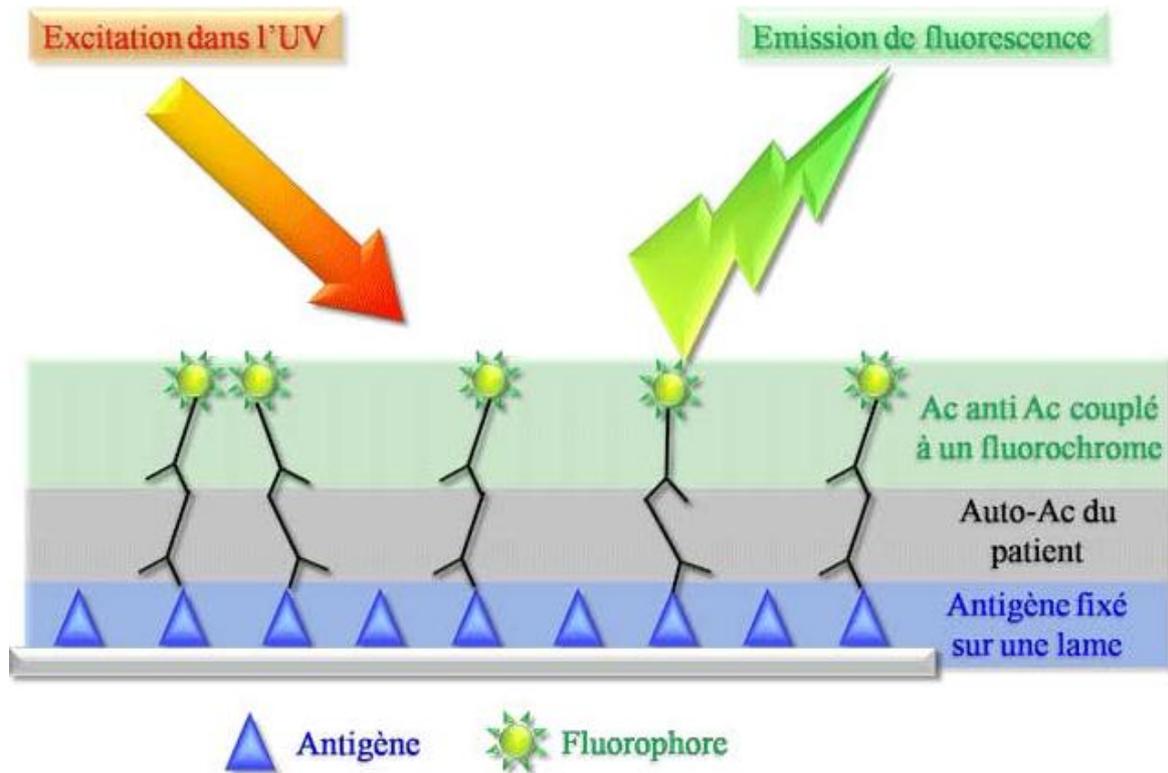
Figure 5 : Lésions dermatologiques du pavillon auriculaire (1) et de la truffe (2) chez un chien leishmanien (laboratoire de parasitologie, ENVA)[113]



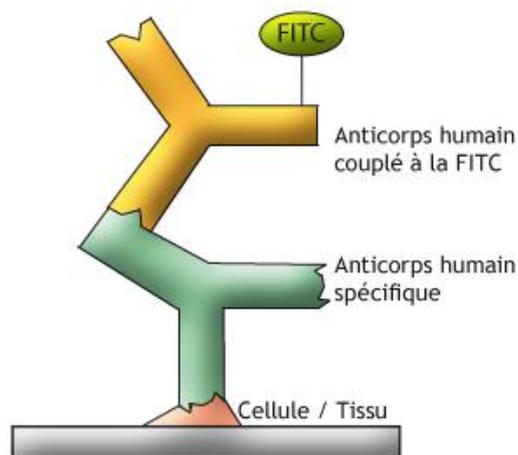
Figure 6 - Cachexie chez un Dogue Allemand leishmanien (Laboratoire de parasitologie, ENVL) [113]

Appendice B : Principe de la technique IFI : [77]

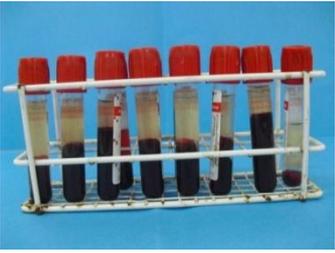
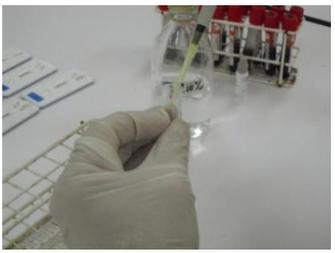
L'IFI repose sur la mise en évidence de complexes Ag-Ac grâce au marquage des réactifs immunologiques (Ag) par une substance fluorescente ;
Les Ac recherchés dans le sérum sont fixés sur l'antigène lui-même fixé sur une lame puis mis en évidence par l'ajout d'anti-gamma globulines spécifiques d'espèce marquées par un fluorochrome



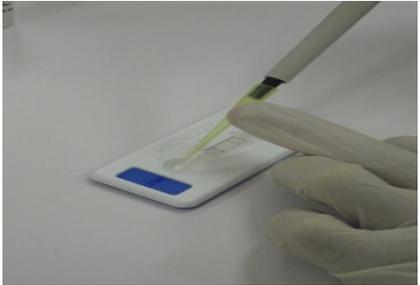
Principe du test IFI [77].



Appendice C : Mode opératoire : technique FLG (photos personnelles)

		
<p>1/ Centrifugation des échantillons</p>	<p>2/ Récolte du sérum après centrifugation</p>	<p>3/ Prélever 1 ml de sérum</p>
		
<p>4/ Ajouter 2 gouttes de formol à 10%</p>	<p>5/ Agiter</p>	<p>6/ Observer la réaction</p>

Appendice D : Mode opératoire technique Witness leishmania (photos personnelles)

	
<p>1/ Prélever 10µl de sérum</p>	<p>2/ Placer les 10 µl dans le puits</p>
	
<p>3/ Ajouter 4 gouttes de solution tampon</p>	<p>4/ Lire le résultat</p>

Appendice E - Mode opératoire pour la technique manuelle en IFI :

TITERPLANE

	Lames avec BIOCHIPs		Support de réactifs (TITERPLANE), sur son portoir en polystyrène		
1	Incubation avec les échantillons	 <p>Pipetage des échantillons dilués</p>	<p>volume variable selon la dimension des puits :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 25 µl par puits (5 x 5 mm) • 70 µl par puits (9 x 7 mm) 	 <p>Dépôt de la lame à l'envers sur le TITERPLANE</p>	 <p>Incubation (30 min)</p>
2	Lavage au PBS-Tween	 <p>Rincer 1 sec.</p>		 <p>5 min. dans le bac de lavage</p>	
3	Incubation avec le conjugué	 <p>Pipetage du conjugué couplé à la FITC</p>	<p>volume variable selon la dimension des puits :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 20 µl par puits (5 x 5 mm) • 60 µl par puits (9 x 7 mm) 	 <p>Dépôt de la lame à l'envers sur le TITERPLANE</p>	 <p>Incubation (30 min)</p>
4	Lavage au PBS-Tween	 <p>Rincer 1 sec.</p>		 <p>5 min. dans le bac de lavage</p>	
5	Inclusion et observation	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dépôt de la lamelle couvre-objet sur le portoir en polystyrène du TITERPLANE 2. Dépôt du milieu d'inclusion (glycérine) sur la lamelle 	<p>volume variable selon la dimension des puits :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 10 µl par puits (5 x 5 mm) • 20 µl par puits (9 x 7 mm) 	 <p>Inclusion par dépôt de la lame incubée sur la lamelle</p>	 <p>Evaluation: lecture de fluorescence sous microscope.</p>

NB : dans le cas de l'automatisation de l'IFI, les lames sont techniquées à l'endroit de façon « traditionnelle ».

Appendice F : tableaux statistique chats et chiens

CHIENS

Statistiques descriptives

All Groups Descriptive Statistics (Chiens.sta)						
Variable	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.	Coef.Var.
Age	50	42,8800	12,0000	192,000	28,1755	65,7079

Sexe=Mâle Descriptive Statistics (Chiens.sta)						
Variable	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.	Coef.Var.
Age	43	44,7907	12,0000	192,000	29,6363	66,1662

Sexe=Femelle Descriptive Statistics (Chiens.sta)						
Variable	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.	Coef.Var.
Age	7	31,1428	17,0000	51,0000	12,1714	39,0824

Fréquences

Category	Frequency table: Date (Chiens.sta)			
	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
2-Feb-10	3	3	6,0000%	6,0000%
9-Feb-10	3	6	6,0000%	12,0000%
16-Feb-10	2	8	4,0000%	16,0000%
23-Feb-10	3	11	6,0000%	22,0000%
4-Mar-10	3	14	6,0000%	28,0000%
11-Mar-10	3	17	6,0000%	34,0000%
18-Mar-10	3	20	6,0000%	40,0000%
25-Mar-10	3	23	6,0000%	46,0000%
1-Apr-10	3	26	6,0000%	52,0000%
6-Apr-10	3	29	6,0000%	58,0000%
8-Apr-10	3	32	6,0000%	64,0000%
15-Apr-10	3	35	6,0000%	70,0000%
22-Apr-10	3	38	6,0000%	76,0000%
4-May-10	3	41	6,0000%	82,0000%
11-May-10	3	44	6,0000%	88,0000%
20-May-10	6	50	12,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

Race

Category	Frequency table: Race (Chiens.sta)			
	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
Commune	40	40	80,0000%	80,0000%
Berger All.	5	45	10,0000%	90,0000%
Doberman	1	46	2,0000%	92,0000%
Rottweiler	1	47	2,0000%	94,0000%
Caniche	2	49	4,0000%	98,0000%
Berger All. (X)	1	50	2,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

Sexe

Frequency table: Sexe (Chiens.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
Mâle	43	43	86,0000%	86,0000%
Femelle	7	50	14,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

Frequency table: Age (Chiens.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
12 mois	3	3	6,0000%	6,0000%
17	1	4	2,0000%	8,0000%
18	2	6	4,0000%	12,0000%
24	8	14	16,0000%	28,0000%
36	16	30	32,0000%	60,0000%
48	10	40	20,0000%	80,0000%
51	1	41	2,0000%	82,0000%
60	5	46	10,0000%	92,0000%
72	1	47	2,0000%	94,0000%
96	2	49	4,0000%	98,0000%
192	1	50	2,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

Age

Lésions

Frequency table: Lésions (Chiens.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
0	29	29	58,0000%	58,0000%
1	1	30	2,0000%	60,0000%
6	9	39	18,0000%	78,0000%
6,2	5	44	10,0000%	88,0000%
1.2.3.4.5.8	1	45	2,0000%	90,0000%
1.2.3.4.5.6.8	2	47	4,0000%	94,0000%
1.2.5.6	1	48	2,0000%	96,0000%
2.3.4.5.6.8.9	1	49	2,0000%	98,0000%
1.3.4.2.6.7.8	1	50	2,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

FLG

Frequency table: FLG (Chiens.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
+	20	20	40,0000%	40,0000%
-	30	50	60,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

Witness

Frequency table: Witness (Chiens.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
+	20	20	40,0000%	40,0000%
-	30	50	60,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

Nombre de lésions

Frequency table: Nbre_Lés (Chiens.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
Aucune	29	29	58,0000%	58,0000%
1 lésion	10	39	20,0000%	78,0000%
2 lésions	5	44	10,0000%	88,0000%
3 et plus	6	50	12,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

Distribution du Witness (par race et sexe)

Summary Table for all Multiple Response Items (Chiens.sta)				
Totals/percentages based on number of respondents				
Multiple identical responses were ignored				
N=50 Race	Sexe	Witness -	Witness +	Row Totals
Rottweiler	Mâle	1	0	1
Rottweiler	Femelle	0	0	0
	Total	1	0	1
Commune	Mâle	22	16	38
Commune	Femelle	2	0	2
	Total	24	16	40
Berger All.	Mâle	1	1	2
Berger All.	Femelle	2	1	3
	Total	3	2	5
Caniche	Mâle	1	0	1
Caniche	Femelle	1	0	1
	Total	2	0	2
Berger All. (X	Mâle	0	1	1
Berger All. (X	Femelle	0	0	0
	Total	0	1	1
Doberman	Mâle	0	0	0
Doberman	Femelle	0	1	1
	Total	0	1	1

Crosstabs :

Race : rien de significatif

Sexe : idem

Summary Frequency Table (Chiens.sta)			
Marked cells have counts > 5			
(Marginal summaries are not marked)			
Prés_Lés	Witness +	Witness -	Row Totals
Absence de lésion	1	28	29
1 lésion ou plus	19	2	21
All Grps	20	30	50

Summary Table: Expected Frequencies (Chiens.sta)			
Marked cells have counts > 5			
Pearson Chi-square: 38,4373, df=1, p=,000000			
Prés_Lés	Witness +	Witness -	Row Totals
Absence de lésion	11,6000	17,4000	29,0000
1 lésion ou plus	8,4000	12,6000	21,0000
All Grps	20,0000	30,0000	50,0000

Summary Table: Observed minus Expected Frequencies (Chiens.sta)			
Marked cells have counts > 5			
Pearson Chi-square: 38,4373, df=1, p=,000000			
Prés_Lés	Witness +	Witness -	Row Totals
Absence de lésion	-10,6000	10,6000	0,000000
1 lésion ou plus	10,6000	-10,6000	0,000000
All Grps	0,0000	0,0000	0,000000

CHATS

Statistiques descriptives

All Groups Descriptive Statistics (Chats.sta)						
Variable	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.	Standard Error
Age	50	30,9600	12,0000	120,000	18,1568	2,56776

Sexe=Mâle Descriptive Statistics (Chats.sta)						
Variable	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.	Standard Error
Age	26	34,6153	12,0000	120,000	21,8194	4,27913

Sexe=Femelle Descriptive Statistics (Chats.sta)						
Variable	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.	Standard Error
Age	24	27,0000	12,0000	48,0000	12,3851	2,52810

Fréquences

Race

Frequency table: Race (Chats.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
Commune	50	50	100,000	100,000
Missing	0	50	0,000	100,000

Sexe

Frequency table: Sexe (Chats.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
Mâle	26	26	52,0000%	52,0000%
Femelle	24	50	48,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

Age

Frequency table: Age (Chats.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
12 mois	11	11	22,0000%	22,0000%
24	16	27	32,0000%	54,0000%
36	13	40	26,0000%	80,0000%
48	8	48	16,0000%	96,0000%
60	1	49	2,0000%	98,0000%
120	1	50	2,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

Lésions

Frequency table: Lésions (Spreadsheet35)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
0	32	32	64,0000%	64,0000%
1,2	2	34	4,0000%	68,0000%
2	16	50	32,0000%	100,0000%
Missing	0	50	0,0000%	100,0000%

FLG et Witness

Frequency table: FLG (Chats.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
-	32	32	64,0000	64,0000
+	18	50	36,0000	100,0000
Missing	0	50	0,0000	100,0000

Frequency table: Witness (Chats.sta)				
Category	Count	Cumulative Count	Percent	Cumulative Percent
-	32	32	64,0000	64,0000
+	18	50	36,0000	100,0000
Missing	0	50	0,0000	100,0000

Crosstabs

Sexe et Witness

Summary Frequency Table (Chats.sta)			
Marked cells have counts > 5			
(Marginal summaries are not marked)			
Sexe	Witness -	Witness +	Row Totals
Mâle	13	13	26
Femelle	19	5	24
All Grps	32	18	50

Summary Table: Expected Frequencies (Chats.sta)			
Marked cells have counts > 5			
Pearson Chi-square: 4,60793, df=1, p=,031827			
Sexe	Witness -	Witness +	Row Totals
Mâle	16,6400	9,3600	26,0000
Femelle	15,3600	8,6400	24,0000
All Grps	32,0000	18,0000	50,0000

Summary Table: Observed minus Expected Frequencies (Chats)
 Marked cells have counts > 5
 Pearson Chi-square: 4,60793, df=1, p=,031827

Sexe	Witness -	Witness +	Row Totals
Mâle	-3,6400	3,6400	0,00
Femelle	3,6400	-3,6400	0,00
All Grps	0,0000	0,0000	0,00

Sexe et lésions

Summary Frequency Table (Chats.sta)
 Marked cells have counts > 5
 (Marginal summaries are not marked)

Prés_lés	Sexe		Row Totals
	Mâle	Femelle	
Absence de lésior	13	19	32
1 lésion ou plus	13	5	18
All Grps	26	24	50

Summary Table: Expected Frequencies (Chats.sta)
 Marked cells have counts > 5
 Pearson Chi-square: 4,60793, df=1, p=,031827

Prés_lés	Sexe		Row Totals
	Mâle	Femelle	
Absence de lésior	16,6400	15,3600	32,0000
1 lésion ou plus	9,3600	8,6400	18,0000
All Grps	26,0000	24,0000	50,0000

Summary Table: Observed minus Expected Frequencies (Chats.sta)
 Marked cells have counts > 5
 Pearson Chi-square: 4,60793, df=1, p=,031827

Prés_lés	Sexe		Row Totals
	Mâle	Femelle	
Absence de lésior	-3,6400	3,6400	0,00
1 lésion ou plus	3,6400	-3,6400	0,00
All Grps	0,0000	0,0000	0,00

Sexe et Witness

Corrélation parfaite ($p=0,00000$)

L'absence de lésion correspond à un Witness –

La présence de lésion correspond à un Witness +

Summary Frequency Table (Chats.sta)			
Marked cells have counts > 5			
(Marginal summaries are not marked)			
Prés_lés	Witness -	Witness +	Row Totals
Absence de lésior	32	0	32
1 lésion ou plus	0	18	18
All Grps	32	18	50

Summary Table: Expected Frequencies (Chats.s			
Marked cells have counts > 5			
Pearson Chi-square: 50,0000, df=1, p=,000000			
Prés_lés	Witness -	Witness +	Row Totals
Absence de lésior	20,4800	11,5200	32,0000
1 lésion ou plus	11,5200	6,4800	18,0000
All Grps	32,0000	18,0000	50,0000

Summary Table: Observed minus Expected Frequencies (Chats			
Marked cells have counts > 5			
Pearson Chi-square: 50,0000, df=1, p=,000000			
Prés_lés	Witness -	Witness +	Row Totals
Absence de lésior	11,5200	-11,5200	0,0000
1 lésion ou plus	-11,5200	11,5200	0,0000
All Grps	0,0000	0,0000	0,0000

Appendice G

Photos de chiens et chats retrouvés à la fourrière



Appendice H

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

(Fourrière HURBAL Alger)

Date :

Identification :

Espèce :

Race :

Sexe :

Age (approximatif) :

Nature du prélèvement :

Lésions

observées :

.....

.....

.....

.....

QUESTIONNAIRE

I - IDENTIFICATION

IDENTIFICATION DU CABINET

Nom du vétérinaire :

Prénom :

Adresse :

Ville : Tél :

email :

IDENTIFICATION DU REpondant

1/Etes-vous :

Généraliste Spécialiste

2/Quelle est votre activité dominante ?

Canine Rurale Mixte Autre

3/ Pendant l'année 2009 combien de cas de leishmaniose avez-vous eu en consultation ?

.....

4/ Parmi ces cas combien étaient nouveaux ?

.....

5/ Parmi ces cas, y a-t-il eu des chats suspects d'atteinte de leishmaniose ?

Oui Non

Si oui, sur quelle base ?

.....

6/ Combien de cas avez-vous traité ?

.....

7/ Considérez-vous que ces cas étaient issus d'une zone d'enzootie.

Oui Non

II - DIAGNOSTIC

1 - Démarche diagnostique

8 / Utilisez-vous des méthodes de diagnostic : « souvent », « parfois » ou « jamais » ?

Souvent Parfois Jamais

- Clinique seule
- Epidémiologie seule
- Laboratoire seul
- Clinique + épidémiologie
- Clinique + laboratoire
- Epidémiologie + laboratoire
- Clinique + épidémiologie +laboratoire

2 - Diagnostic clinique

9/ Quels sont les symptômes dont vous tenez compte ? (cocher la ou les réponses possibles)

- Baisse de forme
- Onychogryphose
- Amaigrissement
- Splénomégalie
- Fièvre
- Lésions oculaires
- Lésions cutanées
- Troubles digestifs
- Alopécie
- Epistaxis
- Squamosis
- Anémie
- Adénopathie
- Autre, précisez :

10/Confirmez-vous systématiquement le diagnostic clinique par un examen de laboratoire?

Oui Non

11/ Pour le diagnostic épidémiologique tenez-vous compte des facteurs suivants :

	OUI	NON
Lieu de vie		
Mode de vie		
Age		
Race		

12/Avez-vous recours au diagnostic de laboratoire en l'absence de signes cliniques ?

Oui Non

13) Lorsque vous avez recours au laboratoire, faites-vous appel aux techniques de visualisation directe?

Oui Non

14/ Si oui, lesquelles :

- Ponction médullaire
- Calques cutanés
- Ponction ganglionnaire
- Frottis
- Autre, préciser...

15/ Lorsque vous avez recours au laboratoire, faites-vous appel aux techniques indirectes (sérologie) ?

Oui Non

16/ Utilisez-vous un laboratoire extérieur à votre cabinet ?

Oui Non

17/ Pratiquez-vous des tests au cabinet ?

Oui Non

18/ Si oui, lesquels ?

.....
.....
.....

19) Dans quel(s) cas traitez-vous ?

- Symptômes seuls
- Symptômes + environnement
- Test positif seul
- Symptômes + test positif
- En prévention

20/ Dans quel(s) cas ne traitez-vous pas et pourquoi ?

.....
.....

III – CONDUITE THERAPEUTIQUE

21/ Quel(s) protocole(s) utilisez-vous et dans quel cas?

Produit	Principe Actif	Dose	Fréquence	Durée

Suivi du traitement

22/ Utilisez-vous des paramètres de suivi de l'efficacité ?

Oui Non

23) Si oui, avec quel(s) moyen(s) ?

- Clinique - Laboratoire

24/ Souhaiteriez-vous avoir d'autres moyens de suivi du traitement ?

Oui Non

Appendice I :

Liste des abréviations

Ac : Anticorps

ADN : Acide désoxyribonucléique

Ag : Antigène

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

CD : Cluster of differentiation

CMH:Complexe majeur d'histocompatibilité

CPA: Cellule présentatrice d'antigène

CSF : Facteur de croissance hématopoéitique

DAT : Test d'agglutination directe

ELISA : Enzyme linked immuno sorbent assay

ENVL :Ecole Nationale vétérinaire de Lyon

FL : Leishmaniose féline

FeLV : Feline Leukemia Virus

FIV : Feline immunodeficiency virus

FLG: Formol leuco gélification

GP63: Glycoprotéine 63

HAI: test d' hémagglutination indirecte

HURBAL :

IDR : Intra dermo reaction

IFI : Immuno fluorescence indirecte

IFN : Interferon

Ig : Immunoglobuline

IHA : Inhibition de l'hémagglutination

IL : Interleukine

IC : Intervalle de confiance

IM : Intramusculaire

IV : Intraveineuse

J : jour

Km² : Kilomètre carré

Kg : Kilogramme

LPG : lipophosphoglycane

LTc : Lymphocyte cytotoxique

LTh : Lymphocyte helper

MGG: May Grunwald Giemsa

MON: Montpellier

Mg : Milligramme

ml: Millilitre

NK: natural killer

NNN: Nicolle Novay McNeal

NO: monoxide d'azote

OIE: Office Internationale des Epizooties

OMS: Organisation Mondiale de la santé

PCR : Polymerase Chain Reaction

PO : Peros

® : Registred

RIM : Rapid Immuno Migration

Sc :Sous cutané

SPM : Système des phagocytes mononuclés

Taq polymérase : ADN polymérase

TGF : Transforming growth factor

TNF: Tumor necrosis factor

UI: Unité Internationale

VIH : Virus de l'immunodéficience acquise

VPN: Valeur prédictive négative

VPP : valeur prédictive positive

WHO : World Health Organization

µg : microgramme