



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 10731

**To cite this version :**

Granier, Marie. *Etude de la perception du vaccin contre la leishmaniose par les vétérinaires et les propriétaires de chiens en zone d'enzootie sur le territoire de France métropolitaine*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2013, 170 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

# ETUDE DE LA PERCEPTION DU VACCIN CONTRE LA LEISHMANIOSE PAR LES VÉTÉRINAIRES ET LES PROPRIÉTAIRES DE CHIENS EN ZONE D'ENZOOTIE SUR LE TERRITOIRE DE FRANCE MÉTROPOLITAINE

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

*par*

**GRANIER Marie**

Née, le 19 juillet 1989 à BEZIERS (34)

---

**Directeur de thèse : Mme Séverine BOULLIER**

---

## JURY

PRESIDENT :

M. Alexis VALENTIN

**Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE**

ASSESSEURS :

**Mme Séverine BOULLIER**  
**Mme Mathilde PAUL**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Mme Laure POINCELOT

Responsable Technique chez Virbac France



## Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

**Directeur** : M. A. MILON

### PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

### PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

### PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootchnie*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

### PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

#### MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

#### MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*  
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*  
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*  
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*  
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*  
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*  
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

#### MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*  
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

#### ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*  
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie*  
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*  
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*  
M. **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

## **REMERCIEMENTS**

### **A Monsieur le Professeur Alexis VALENTIN**

Professeur des Universités à la Faculté de Pharmacie de Toulouse UPS  
Praticien hospitalier  
*Zoologie-Parasitologie*

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,  
Hommages respectueux.

### **A Madame le Docteur Séverine BOULLIER**

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
*Immunologie générale et médicale*

Qui m'a guidée tout au long de ce travail.  
Pour sa disponibilité et ses conseils,  
Sincère reconnaissance.

### **A Madame le Docteur Mathilde PAUL**

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
*Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de faire partie de mon jury de thèse,  
Sincères remerciements.

### **A Madame le Docteur Laure POINCELOT**

Responsable technique- Animaux de compagnie, groupe Virbac France  
*Gamme immunologie, gamme antibiotique*

Qui m'a aidée à gérer l'envoi et la réception des questionnaires, et qui s'est toujours montrée  
très disponible pour répondre à mes questions.

Sincères remerciements.

-----

**A toutes les personnes qui ont de près ou de loin participé à la réalisation de ma thèse,**

Aux vétérinaires et aux propriétaires d'animaux qui ont bien voulu répondre à mon enquête.

Au groupe **Virbac France**, pour s'être montré intéressé par mon projet et pour l'avoir soutenu dans ses aspects financier et logistique.

Au docteur **Eric Vandaele**, pour sa réponse rapide et son aide précieuse.

-----

**A mes parents**, pour m'avoir toujours soutenue et supportée dans les meilleurs moments comme dans les pires. Sans vous, je n'en serais pas là aujourd'hui.

**A mon frère Romain**, à **Ingrid**, et à **Matthias**, qui est récemment venu agrandir notre famille.

**A toute ma famille**. Pour être là, tout simplement !

**Et à ceux qui ne sont plus là**. Je pense à vous...

-----

**A mes amis**, ceux et celles sur qui je peux compter. Pour tous les bons moments passés, présents et à venir : qu'ils soient nombreux !

-----

**A nos fidèles compagnons**, car c'est pour vous que j'ai choisi ce métier !

**A Yoda**, « Yoyo », « Bisou », le papi. Mauvais caractère, mais tellement attachant ! A toutes tes manies de vieux grincheux.

**A Rocky**, « Kinou », « Truffe ». Le gros bébé de la famille ! Toi aussi, si tu n'existais pas, il faudrait t'inventer !

**A Gibbs** et sa démarche bizarre. Attention, tu n'es plus le premier !!

**A Pollux**, le rescapé bien tombé ! On t'aime, va !

**A Maurice**, « Momo », l'associable intouchable.

**Et aux disparus**. **Samy**, tu seras à jamais dans mon cœur...





# **TABLE DES MATIERES**

INTRODUCTION.....	10
-------------------	----

## **PARTIE A : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : LEISHMANIOSES HUMAINES ET ANIMALES : DESCRIPTION, MOYENS DE LUTTE, INTERET DE CANILEISH® 11**

### **I. LES LEISHMANIOSES DANS LE MONDE : EPIDEMIOLOGIE DES LEISHMANIOSES HUMAINES ET ANIMALES ..... 12**

<b>1. Biologie et épidémiologie des leishmanioses .....</b>	<b>12</b>
<i>a. Les différents acteurs .....</i>	<i>12</i>
α. Les parasites .....	12
β. Les vecteurs.....	14
γ. Les réservoirs.....	17
<i>b. Le cycle parasitaire général d'une leishmaniose.....</i>	<i>23</i>
<i>c. Interactions entre le parasite et le vecteur .....</i>	<i>24</i>
α. Devenir des leishmanies dans le phlébotome.....	24
β. Adaptations et survie des leishmanies dans le phlébotome.....	26
<i>d. Interactions entre le parasite et son hôte .....</i>	<i>28</i>
α. Echappement des promastigotes à la lyse par le complément .....	28
β. Fixation aux macrophages et internalisation .....	28
γ. Survie dans la vacuole parasitophore .....	29
δ. Inhibition de la production de molécules leishmanicides .....	30
ε. Déviation de la production de cytokines .....	30
ζ. Altération des mécanismes de présentation d'antigène .....	30
<b>2. Classification épidémioclinique des leishmanioses chez l'Homme.....</b>	<b>31</b>
<i>a. Leishmanioses viscérales .....</i>	<i>32</i>
α. La leishmaniose viscérale zoonotique (LVZ) .....	33
β. La leishmaniose viscérale anthroponotique (LVA) .....	34
<i>b. Les leishmanioses cutanées .....</i>	<i>34</i>
α. Leishmanioses cutanées localisées (LCL) .....	35
β. Leishmaniose cutanée diffuse (LCD).....	38
<i>c. La leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM) .....</i>	<i>39</i>
<b>3. Modes de transmission .....</b>	<b>40</b>
<i>a. Vectoriel .....</i>	<i>40</i>
<i>b. Non vectoriels.....</i>	<i>40</i>
<b>4. Facteurs de risque et extension des leishmanioses.....</b>	<b>42</b>
<i>a. Changements d'écosystèmes .....</i>	<i>42</i>
α. Construction de barrages.....	42
β. Déforestation .....	43
γ. Urbanisation .....	43
<i>b. Variations climatiques.....</i>	<i>43</i>
<i>c. Mouvements de populations .....</i>	<i>43</i>
<i>d. Importations et voyages d'animaux réservoirs .....</i>	<i>43</i>
<i>e. Immunodépression : exemple de la co-infection avec le VIH .....</i>	<i>44</i>
<b>II. LA LEISHMANIOSE CANINE A LEISHMANIA INFANTUM.....</b>	<b>47</b>
<b>1. Présentation.....</b>	<b>47</b>
<i>a. Physiopathologie (mécanismes immunitaires).....</i>	<i>47</i>
α. Immunité antiparasitaire : des interactions complexes .....	47
β. Mécanismes immunitaires mis en jeu lors d'infestation par des leishmanies.....	48
γ. Rôle central du macrophage dans le contrôle de l'infection par les leishmanies .	49

<i>b. Signes cliniques</i> .....	50
α. Présentation générale.....	50
β. Lésions de la peau, des muqueuses et des phanères.....	51
γ. Lymphadénopathie .....	52
δ. Atrophie musculaire .....	53
ε. Lésions rénales .....	53
ζ. Lésions oculaires .....	53
η. Lésions articulaires et osseuses.....	53
θ. Hémorragies .....	53
ι. Anémie .....	53
<i>c. Signes biologiques</i> .....	53
α. Protéines sériques.....	53
β. Biochimie sanguine .....	54
γ. Hématologie .....	54
<i>d. Diagnostic/dépistage</i> .....	54
α. La clinique.....	54
β. La sérologie.....	55
γ. Le diagnostic moléculaire.....	58
δ. La parasitologie .....	59
<i>e. Traitement</i> .....	61
α. Traitement spécifique.....	62
β. Traitement non spécifique.....	66
γ. L'intérêt de l'immunothérapie.....	66
<i>f. Facteurs prédisposants : le rôle de la génétique</i> .....	67
<i>g. Autres espèces à risque</i> .....	67
<b>2. Répartition géographique</b> .....	<b>68</b>
<i>a. Au niveau mondial</i> .....	68
<i>b. Le cas de l'Europe</i> .....	69
α. Données actuelles.....	69
β. Extension et facteurs favorisants.....	71
<i>c. La leishmaniose canine en France</i> .....	74
<b>3. Moyens de maîtrise</b> .....	<b>77</b>
<i>a. Généralités</i> .....	77
<i>b. Contrôle des réservoirs</i> .....	77
<i>c. Contrôle des vecteurs et prévention des piqûres de phlébotomes</i> .....	79
<b>III. VACCINS ANTI-LEISHMANIENS : DE LA LEISHMANISATION A CANILEISH®</b> .....	<b>81</b>
<b>1. Historique</b> .....	<b>81</b>
<i>a. Vaccins vivants et leishmanisation</i> .....	81
<i>b. Vaccins de 1<sup>ère</sup> génération</i> .....	82
<i>c. Vaccins de 2<sup>ème</sup> génération</i> .....	82
<i>d. Vaccins de 3<sup>ème</sup> génération</i> .....	83
<b>2. Canileish®</b> .....	<b>83</b>
<i>a. Historique : conception et production</i> .....	83
<i>b. Composition du vaccin</i> .....	84
α. Principe actif .....	84
β. Adjuvant.....	86
<i>c. Etudes d'efficacité et de sécurité</i> .....	87
α. Efficacité .....	87
β. Sécurité vaccinale.....	91
<i>d. Utilisation pratique</i> .....	92

<i>e. Vers un vaccin humain contre la leishmaniose .....</i>	<i>93</i>
--	-----------

**PARTIE B : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE : ENQUETE MENEES AUPRES DES VETERINAIRES ET PROPRIETAIRES DE CHIENS EN ZONE D'ENZOOTIE SUR LE TERRITOIRE DE FRANCE METROPOLITAINE. .... 94**

<b>I. OBJECTIFS DE L'ENQUETE .....</b>	<b>95</b>
<b>1. Objectifs personnels.....</b>	<b>95</b>
<b>2. Une enquête qui s'inscrit dans une stratégie globale de communication et de sensibilisation .....</b>	<b>96</b>
<b>II. MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>97</b>
<b>1. Les questionnaires .....</b>	<b>97</b>
<i>a. Questionnaire destiné aux vétérinaires ayant une activité canine.....</i>	<i>97</i>
<i>b. Questionnaire destiné aux propriétaires de chiens.....</i>	<i>97</i>
<b>2. Collecte des données .....</b>	<b>98</b>
<i>a. Territoire ciblé .....</i>	<i>98</i>
<i>b. Méthode d'échantillonnage.....</i>	<i>98</i>
<i>α. Quelques définitions.....</i>	<i>99</i>
<i>β. Premières cibles de l'enquête : les vétérinaires.....</i>	<i>99</i>
<i>γ. Secondes cibles de l'enquête : les propriétaires de chiens .....</i>	<i>100</i>
<i>δ. Bilan .....</i>	<i>100</i>
<i>c. Processus de collecte.....</i>	<i>101</i>
<b>3. Analyse des données .....</b>	<b>101</b>
<i>a. Fichier « données générales ».....</i>	<i>101</i>
<i>b. Fichier « propriétaires ».....</i>	<i>101</i>
<i>c. Fichier « vétérinaires » .....</i>	<i>101</i>
<b>III. RESULTATS .....</b>	<b>102</b>
<b>1. Réponses .....</b>	<b>102</b>
<i>a. Tendances générales .....</i>	<i>102</i>
<i>b. Distinction des réponses.....</i>	<i>102</i>
<i>α. Par catégories .....</i>	<i>102</i>
<i>β. Par département et par région.....</i>	<i>103</i>
<b>2. Perception de Canileish® par les vétérinaires .....</b>	<b>104</b>
<i>a. Activité des vétérinaires interrogés.....</i>	<i>104</i>
<i>b. Avis sur l'incidence de la leishmaniose en 2011.....</i>	<i>104</i>
<i>c. Moyens de prévention recommandés aux propriétaires de chiens.....</i>	<i>105</i>
<i>d. Communication sur Canileish® auprès des vétérinaires.....</i>	<i>107</i>
<i>e. Opinion des vétérinaires au sujet de Canileish®.....</i>	<i>108</i>
<i>α. Vétérinaires curieux et/ou enthousiastes .....</i>	<i>110</i>
<i>β. Vétérinaires méfiants et/ou réfractaires.....</i>	<i>111</i>
<i>f. Communication avec les propriétaires de chiens .....</i>	<i>112</i>
<i>α. Clients curieux et/ou enthousiastes .....</i>	<i>115</i>
<i>β. Clients méfiants et/ou réfractaires.....</i>	<i>116</i>
<i>g. L'utilisation de Canileish® dans la pratique quotidienne.....</i>	<i>117</i>
<i>α. Déroulement de la primovaccination .....</i>	<i>118</i>
<i>β. Prix de la primovaccination.....</i>	<i>120</i>
<i>h. Avenir de la vaccination avec Canileish® .....</i>	<i>122</i>
<b>3. Perception de Canileish® par les propriétaires de chiens.....</b>	<b>122</b>
<i>a. Profil des personnes ayant répondu.....</i>	<i>122</i>
<i>b. Mode de vie et facteurs de risque de leishmaniose .....</i>	<i>123</i>
<i>c. Moyens de prévention mis en place par les propriétaires de chiens.....</i>	<i>124</i>
<i>d. Les propriétaires de chiens et la leishmaniose .....</i>	<i>126</i>

<i>e. Les propriétaires de chiens et le vaccin Canileish®</i> .....	127
α. Communication autour du vaccin .....	127
β. Etat d'esprit des propriétaires .....	128
γ. La vaccination en pratique .....	130
δ. Prix de la primovaccination .....	131
<i>f. Remarques générales</i> .....	132
<b>IV. DISCUSSION</b> .....	<b>132</b>
<b>1. Sur la rédaction des questionnaires</b> .....	<b>132</b>
<i>a. Questionnaires destinés aux vétérinaires</i> .....	133
<i>b. Questionnaires destinés aux propriétaires de chiens</i> .....	133
<b>2. Sur le territoire ciblé</b> .....	<b>135</b>
<b>3. Sur la méthode d'échantillonnage</b> .....	<b>136</b>
<i>a. 1<sup>er</sup> degré : choix empirique des 600 cliniques/cabinets</i> .....	136
<i>b. Introduction d'un 2<sup>nd</sup> degré : sélection aléatoire des praticiens</i> .....	136
<b>4. Sur les réponses</b> .....	<b>137</b>
<b>5. Sur la perception de Canileish®</b> .....	<b>137</b>
<i>a. Prévention de la leishmaniose</i> .....	137
<i>b. Communication autour de Canileish®</i> .....	138
<i>c. La vaccination en pratique</i> .....	139
<b>6. Structures « grosses consommatrices de Canileish® » versus « autres grosses structures » : quel impact sur les réponses obtenues ?</b> .....	<b>139</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>141</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>143</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>160</b>

## **Table des annexes**

Annexe 1 : Exemple de publicité Canileish® dans la presse régionale (Midi Libre, 2012) ..	144
Annexe 2 : Brochure publicitaire Canileish® disponible chez les vétérinaires .....	145
Annexe 3 : Exemple de publicité Canileish® dans la presse vétérinaire spécialisée.....	146
Annexe 4 : Questionnaire à destination des vétérinaires.....	147
Annexe 5 : Questionnaire à destination des propriétaires de chien.....	151
Annexe 6 : Lettre d'accompagnement .....	155
Annexe 7 : Réponses à l'enquête : données générales par catégorie .....	156
Annexe 8 : Réponses à l'enquête : données générales par département et par région .....	157
8A : par département .....	157
8B : par région.....	157
Annexe 9 : Répartition des 299 structures « les plus grosses consommatrices de Canileish® » contactées .....	159

## Table des illustrations

### Cartes

Carte 1 : Répartition des différents genres de phlébotomes dans le monde.....	15
Carte 2 : Distribution géographique des leishmanioses viscérales dans l'Ancien et le Nouveau Mondes.....	33
Carte 3 : Distribution géographique des leishmanioses cutanées dues à <i>L. tropica</i> (et espèces apparentées) et <i>L. aethiopica</i> dans l'Ancien Monde.....	36
Carte 4 : Distribution géographique de la leishmaniose cutanée due à <i>L. major</i> dans l'Ancien Monde.....	37
Carte 5 : Distribution géographique des leishmanioses cutanées et muco-cutanées dans le Nouveau Monde.....	40
Carte 6 : répartition mondiale des cas de leishmaniose et de co-infection leishmaniose/VIH entre 1990 et 1998.....	45
Carte 7 : La leishmaniose canine en Europe.....	70
Carte 8: Répartition des espèces de phlébotomes vectrices de <i>L. infantum</i> dans le bassin méditerranéen, en septembre 2012.....	71
Carte 9 : Localisation des foyers de leishmaniose canine français recensés dans la littérature, de 1965 à 2007.....	75
Carte 10 : Estimation des zones à risque de transmission de leishmaniose canine par les vecteurs <i>P. perniciosus</i> (en violet) et <i>P. ariasi</i> (en vert) dans le sud de la France.....	76
Carte 11 : Evolution de la répartition de la leishmaniose canine en France à partir des résultats de trois enquêtes nationales.....	77
Carte 12: Carte ayant servi de base pour la sélection de la zone d'échantillonnage.....	98
Carte 13 : Répartition des structures vétérinaires classées comme "plus gros consommatrices de Canileish®" par le laboratoire Virbac, dans les 22 départements de l'enquête.....	136

### Graphiques

Graphique 1 : Incidence des cas de co-infection HIV/leishmaniose reportés dans 4 pays du sud de l'Europe, de 1995 à 2005 (source : WHO, 2007).....	46
Graphique 2 : Résultat de l'essai de terrain sur l'efficacité de Canileish (source : Virbac).....	89
Graphique 3 : Répartition des données générales par catégorie.....	103
Graphique 4 : Pourcentages des types de réponses par région.....	104
Graphique 5 : Avis des vétérinaire sur l'incidence de leishmaniose dans leur département d'exercice en 2011 : tendances régionales.....	104
Graphique 6 : Avis des vétérinaires sur l'incidence de leishmaniose dans leur département d'exercice en 2011 : tendances par catégories.....	105
Graphique 7 : Place des différents moyens de prévention dans les recommandations contre la leishmaniose faites par les vétérinaires.....	106
Graphique 8 : Associations des moyens de prévention contre la leishmaniose canine.....	107
Graphique 9 : Moyens d'information des vétérinaires sur le produit Canileish®.....	108
Graphique 10 : Etat d'esprit des vétérinaires vis-à-vis de la vaccination avec Canileish®....	109
Graphique 11 : Détail des opinions des vétérinaires.....	110
Graphique 12 : Raisons motivant une opinion favorable des vétérinaires vis-à-vis de Canileish®.....	111

Graphique 13 : Raisons motivant une opinion défavorable des vétérinaires vis-à-vis de Canileish®.....	112
Graphique 14 : Demande d'informations de la part de clients au sujet de Canileish®.....	113
Graphique 15 : Moyens d'information sur Canileish® mis à disposition de la clientèle.....	114
Graphique 16 : Réactions des clients perçues par les vétérinaires vis-à-vis de Canileish®. .	114
Graphique 17 : Etat d'esprit des propriétaires des chiens vis-à-vis de la vaccination avec Canileish®.....	115
Graphique 18 : Raisons motivant des réactions positives des clients vis-à-vis de Canileish®, selon les vétérinaires.....	116
Graphique 19 : Raisons motivant des réactions négatives des clients vis-à-vis de Canileish®, selon les vétérinaires.....	117
Graphique 20 : Vétérinaires ayant déjà vacciné avec Canileish® 1 an après le début de sa commercialisation.....	118
Graphique 21 : Nombre de protocoles de primovaccination initiés par mois en moyenne, par les vétérinaires ayant déjà vacciné contre la leishmaniose.....	119
Graphique 22 : Difficultés rencontrées lors de la vaccination avec Canileish®.....	120
Graphique 23 : Effets secondaires rencontrés par nos confrères lors de la vaccination avec Canileish®.....	120
Graphique 24 : Prix de la primovaccination avec Canileish®.....	121
Graphique 25 : Moyens de paiement de la primovaccination avec Canileish® proposés par le vétérinaire.....	122
Graphique 26 : Animaux détenus par les personnes interrogées.....	123
Graphique 27 : Nombre de chiens par propriétaire ayant répondu.....	123
Graphique 28 : Lieux de vie des chiens de notre panel.....	124
Graphique 29 : Protections physiques mises en place dans l'environnement, contre les phlébotomes.....	124
Graphique 30 : Question libre : nature des moyens de lutte contre les phlébotomes dans l'environnement.....	125
Graphique 31 : Traitement des chiens contre les piqûres de phlébotomes.....	126
Graphique 32 : Propriétaires dont les chiens ont déjà attrapé la leishmaniose.....	126
Graphique 33 : Comment les propriétaires de chiens ont découvert l'existence de la leishmaniose.....	127
Graphique 34 : Personnes qui seraient intéressées par Canileish® parmi celles qui n'ont encore jamais entendu parler de ce vaccin.....	127
Graphique 35 : Comment avez-vous été informés de l'existence du vaccin Canileish® ? ....	128
Graphique 36 : Etat d'esprit des propriétaires de chiens vis-à-vis de Canileish®.....	129
Graphique 37 : Raisons motivant des réactions positives vis-à-vis de Canileish®.....	129
Graphique 38 : Raisons motivant des réactions négatives vis-à-vis de Canileish®.....	130
Graphique 39 : Réactions indésirables rencontrées lors de la vaccination avec Canileish®.....	130
Graphique 40 : Envisagez-vous de faire vacciner vos chiens contre la leishmaniose prochainement ?.....	131
Graphique 41 : Raisons poussant à ne pas vacciner contre la leishmaniose.....	131
Graphique 42 : Prix de la primovaccination avec Canileish®.....	132
Graphique 43 : Remarques générales.....	132

## **Photos**

Photo 1 : Stades amastigotes de leishmanies dans un macrophage, colorés au Giemsa .....	14
Photo 2 : Formes promastigotes de leishmanies .....	14
Photo 3 : Phlébotome .....	15
Photo 4 : Chien atteint de leishmaniose .....	21
Photo 5 : <i>Psammomys obesus</i> .....	21
Photo 6 : Damans .....	22
Photo 7 : Paresseux à deux doigts <i>Choloepus didactylus</i> .....	23
Photo 8 : Coupes de rate de chien cliniquement malade.....	60

## **Schémas**

Schéma 1 : Taxonomie des leishmanies.....	13
Schéma 2 : Cycle parasitaire global de la leishmaniose.....	24
Schéma 3 : Stades de développement des leishmanies dans un vecteur compétent.....	26
Schéma 4 : Interactions entre le promastigote, les macrophages et le complément. ....	29
Schéma 5 : Mécanismes immunitaires simplifiés lors d'infestation par des leishmanies .....	49
Schéma 6 : Macrophage activé.....	50
Schéma 7 : Réactions enzymatiques au sein du macrophage et impact des cytokines Th1 et Th2 sur la survie ou la lyse des leishmanies .....	50
Schéma 8 : Statuts cliniques et réponse immunitaire de chiens vivant en zone d'enzootie .....	51
Schéma 9 : Principe de l'IFAT .....	55
Schéma 10 : Principe de l'ELISA dit "en sandwich" .....	57
Schéma 11 : Algorithme utilisable pour le diagnostic de leishmaniose sur un chien présentant une clinique ou des anomalies compatibles .....	61
Schéma 12 : Système de classification du statut leishmanien.....	88
Schéma 13 : Rôle de l'échantillonnage dans l'enquête épidémiologique .....	99
Schéma 14 : Méthode d'échantillonnage théorique de notre enquête. ....	100

## **Tableaux**

Tableau 1 : Cas rapportés d'infections par <i>Leishmania</i> dans l'Ancien Monde.....	19
Tableau 2 : Cas rapportés d'infections par <i>Leishmania</i> dans le Nouveau Monde.....	20
Tableau 3 : Classification épidémioclinique des principales leishmanioses humaines (liste non exhaustive). ....	32
Tableau 4 : Cas rapportés de leishmaniose canine en zones non endémiques .....	44
Tableau 5 : Gradation clinique de la leishmaniose canine, traitement et pronostic .....	65
Tableau 6 : Distribution géographique des différentes espèces de leishmanies infestant le chien, et leurs vecteurs .....	69
Tableau 7 : Chiens atteints de leishmaniose entrés au Royaume-Uni entre avril 2001 et juillet 2002.....	73





## INTRODUCTION

Canileish®, dont la commercialisation en France date de septembre 2011, est le premier vaccin européen contre la leishmaniose canine. Il est le fruit d'années de recherche et de collaboration entre l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement) et le groupe Virbac. Il s'agit d'un vaccin de seconde génération utilisant des AES (Antigènes d'Excrétion Sécrétion) de leishmanies, obtenues grâce à l'utilisation d'un milieu de culture breveté.

Innovation dans la lutte contre la leishmaniose canine, sa conception ouvre aussi des portes dans la lutte contre les leishmanioses humaines.

En effet, la leishmaniose canine est une entité faisant partie d'un contexte beaucoup plus global. Les leishmanioses sont endémiques sur 4 continents. Elles sont dues à la transmission de protozoaires appelés leishmanies, par des phlébotomes, et sont entretenues grâce à des réservoirs variés. Elles s'expriment chez l'Homme sous forme de plusieurs variantes cliniques plus ou moins graves, contre lesquelles on tente de lutter.

Dans une première partie, nous reviendrons donc sur les leishmanioses humaines et animales à travers le monde, afin de replacer Canileish® dans le contexte actuel, et tenter de comprendre son intérêt et ses limites dans la lutte contre ce fléau.

Dans un second temps, nous présenterons les résultats d'une enquête menée par nos soins auprès de 600 vétérinaires et de leurs clients, dans les départements de France métropolitaine où la leishmaniose canine est enzootique. Cette dernière a plusieurs objectifs :

- Faire un état des lieux sur la connaissance de la maladie par les propriétaires de chiens.
- Donner une idée de sa prévalence.
- Déterminer la place qu'occupe le vaccin Canileish®, près de un an après sa mise sur le marché en France, parmi les moyens de prévention déjà existants.
- Déterminer si les objectifs de communication auprès des vétérinaires et des propriétaires de chiens fixés par le laboratoire, ont été atteints.
- Cerner les points forts et les points faibles de la vaccination en pratique.
- Dresser un bilan sur l'avenir de la vaccination avec Canileish®, à partir des intentions affirmées par les différents intervenants.

**PARTIE A : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : LEISHMANIOSES  
HUMAINES ET ANIMALES : DESCRIPTION, MOYENS DE LUTTE,  
INTERET DE CANILEISH®**

# I. LES LEISHMANIOSES DANS LE MONDE : EPIDEMIOLOGIE DES LEISHMANIOSES HUMAINES ET ANIMALES

## 1. Biologie et épidémiologie des leishmanioses

### a. Les différents acteurs

#### α. Les parasites

#### **Taxonomie des leishmanies :**

Les leishmanies sont des protozoaires flagellés de l'ordre des kinétoplastidés (caractérisés par la présence d'un kinétoplaste, c'est-à-dire d'un réseau d'ADN circulaire contenu dans une mitochondrie). Elles appartiennent à la famille des Trypanosomatidae, tout comme les trypanosomes. Le genre *Leishmania* est divisé en deux sous-genres, sur la base du mode de développement du parasite chez son hôte phlébotome :

- Le sous-genre *Leishmania*, que l'on retrouve aussi bien dans l'Ancien que dans le Nouveau Mondes, regroupe des espèces dont les promastigotes se développent uniquement dans l'intestin moyen du phlébotome, en amont du pylore (jonction entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur) : on parle de développement « suprapylarien ».
- Le sous-genre *Vianna*, retrouvé en Amérique centrale et en Amérique du sud, regroupe des espèces qui se développent aussi bien dans l'intestin moyen que dans l'intestin postérieur du phlébotome : ce développement est dit « péripylarien » (OMS, 2011 ; CVBD, 2012 [en ligne])

On dénombre à ce jour une trentaine d'espèces de leishmanies, regroupées en complexes (**schéma 1**). Seulement une vingtaine d'entre elles sont pathogènes pour l'Homme. Etant morphologiquement impossibles à distinguer les unes des autres, plusieurs techniques sont utilisées pour les reconnaître, le principe de base étant de comparer les souches inconnues avec les souches de référence déjà répertoriées :

- Techniques biochimiques, comme l'analyse des iso-enzymes par électrophorèse. Elles permettent de déterminer des zymodèmes, c'est-à-dire des populations parasitaires présentant des profils iso-enzymatiques communs.
- Techniques génomiques : elles permettent de déterminer des schizodèmes, c'est-à-dire des populations parasitaires définies par des « empreintes digitales » communes obtenues par une technique qui comporte la digestion de l'ADN kinétoplastique au moyen d'enzymes de restriction (OMS, 2011).

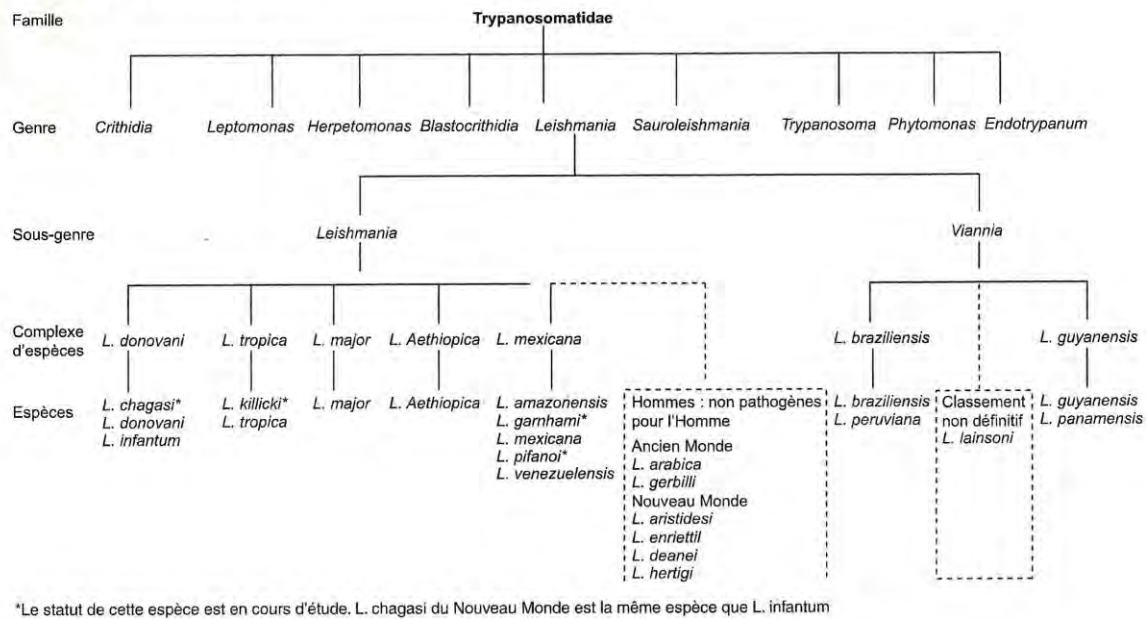


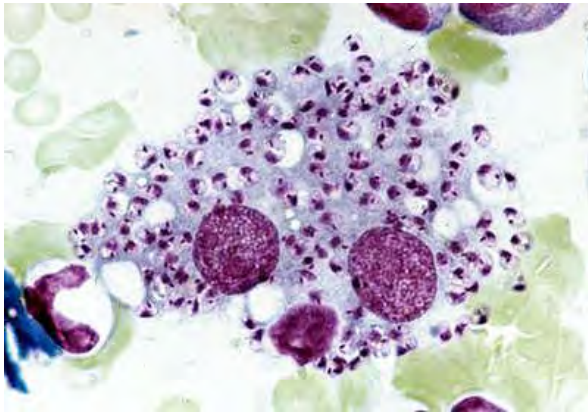
Schéma 1 : Taxonomie des leishmanies (source : OMS, 2011)

### Biologie des leishmanies :

Ce sont des parasites hétéroxènes obligatoires, c'est-à-dire qu'elles ont besoin d'au moins 1 hôte intermédiaire. Les leishmanies sont également polymorphes : elles existent sous 2 formes :

- La forme amastigote (sans flagelle) ou forme « leishmania » (**photo 1**). Il s'agit de la forme intracellulaire obligatoire (dans les macrophages ou les cellules dendritiques du site d'inoculation). Elle est ovoïde, de 2 à 6 µm de diamètre. Elle renferme un gros noyau sphérique subcentral, un kinétoplaste (qui contient de l'ADN mitochondrial) et un flagelle interne rudimentaire. Elle est donc immobile. Elle se multiplie dans la vacuole parasitophore du macrophage, par scission longitudinale. Puis elle est libérée lors de la rupture du macrophage, et va se faire phagocyter par d'autres cellules de même nature.
- La forme promastigote, dite « leptomonas » (**photo 2**). C'est la forme que l'on retrouve libre dans l'intestin du vecteur. Elle est infestante pour l'Homme. Elle est fusiforme et mesure 8 à 25 µm de long sur 4 à 5 µm de large. Son noyau est central et son flagelle développé, ce qui lui permet propulsion et attachement (NADAU, 2005 ; UMR, 2013 [en ligne]).

Le cycle, que l'on développera plus tard, correspond au passage d'un stade à l'autre.



**Photo 1 : Stades amastigotes de leishmanies dans un macrophage, colorés au Giemsa (source : [CVBD, 2013 \[en ligne\]](#))**



**Photo 2 : Formes promastigotes de leishmanies (source : [UMR, 2013 \[en ligne\]](#))**

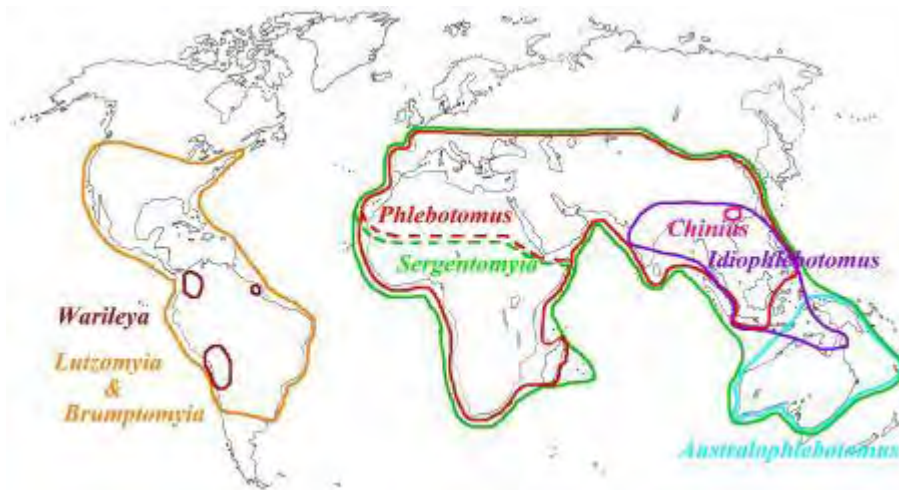
### β. Les vecteurs

Un certain nombre de critères définissent un bon vecteur dans la transmission d'une leishmaniose ([OMS, 2011](#) ; [BANULS, 2010](#)). Il faut :

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

### **Taxonomie :**

Les vecteurs responsables de la transmission des leishmanioses humaines et animales sont des insectes de l'ordre des Diptères, sous-ordre des Nématocères, famille des Psychodidés et sous-famille des phlébotomes. Il existe plusieurs genres de phlébotomes : *Lutzomyia*, *Phlebotomus*, *Sergentomyia*, *Chinius*, *Brumptomyia*, *Warileya*, *Idiophlebotomus* (**carte 1**). Les seuls à transmettre la leishmaniose sont les genres *Lutzomyia* dans le Nouveau Monde et *Phlebotomus* dans l'Ancien Monde. Sur quelque 800 espèces, 93 seulement sont vecteurs démontrés ou probables de leishmanies. La reconnaissance de l'espèce est surtout morphologique, mais de nos jours elle est complétée par des techniques de biologie moléculaire et des analyses ADN ([OMS, 2011](#)).



Carte 1 : Répartition des différents genres de phlébotomes dans le monde (source : [Université de Reims Champagne-Ardenne, 2013 \[en ligne\]](#)).

### **Biologie :**

- Morphologie

Les phlébotomes sont des moucheron de très petite taille (2-3 mm). Leur corps est velu, ils ont des antennes longues (plus de 6 articles), de longues pattes et de longues ailes lancéolées, recouvertes d'écaillés et relevées au repos.

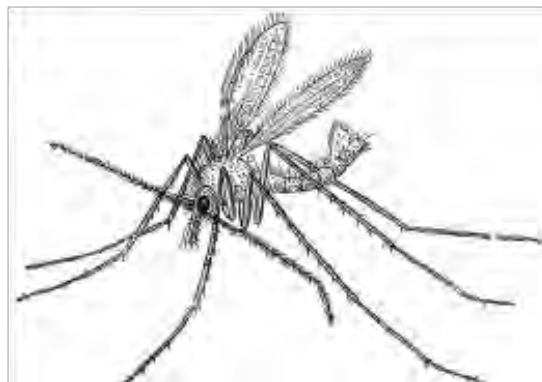


Photo 3 : Phlébotome (source : ENVT)

- Comportement

Le comportement des phlébotomes dépend de l'espèce. De manière générale, leur vol est silencieux et leur piqûre douloureuse. Ils préfèrent en général sortir au crépuscule et pendant la nuit, mais certaines espèces peuvent piquer la journée. Leur période d'activité s'étend de mai à octobre en zone tempérée, et toute l'année en zone tropicale. Leur mode de vie en général est intimement dépendant de la température (ils sont actifs pour des températures supérieures à 18-20°C), du taux d'humidité (HR d'environ 70 à 90%) et du vent. Leur vitesse de vol est d'environ 1 m/s, soit beaucoup moins que les moustiques, et ils sont incapables de voler si la vitesse du vent dépasse cette valeur, ce qui explique qu'ils volent près du sol (la vitesse du vent augmente avec l'altitude). Leur distance de dispersion à partir des lieux de repos varie entre 200m et plus de 2km (OMS, 2011 ; MEKSI SONDOSS, 2012).

- Stades de développement

Après accouplement et repas de sang, la femelle pond des œufs, dont le nombre varie selon la taille de ce repas, et peut atteindre 200. Les stades larvaires sont au nombre de quatre, et la durée de leur période de développement dépend des températures (le froid allonge cette période, les températures élevées l'écourtent). Le stade nymphal assure la transition entre le dernier stade larvaire et le stade adulte (OMS, 2011).

- Alimentation

Seules les adultes femelles sont hématophages car les mâles ont des pièces buccales trop peu développées pour percer la peau. Les repas de sang est indispensable aux femelles pour pouvoir pondre des œufs. Cependant, certaines espèces sont capables d'autogenèse, c'est-à-dire qu'elles peuvent pondre des œufs sans repas de sang préalable, mais ceci seulement pour la première ponte. En général, un seul repas est suffisant mais là encore, certaines espèces peuvent se gorger plusieurs fois pendant un même cycle de ponte.

Le repas de sucre est pratiqué aussi bien par les mâles que par les femelles. Il assure un apport d'énergie et favorise le développement des parasites dans le tube digestif des femelles. Pour cela, certaines espèces sont capables de percer le revêtement de certaines plantes pour en aspirer le suc.

Les larves sont saprophytes et phytophages. Elles se nourrissent de débris végétaux et animaux (OMS, 2011 ; BANULS, 2010).

- Habitats

Les œufs, larves et nymphes, ont besoin d'obscurité, de calme et d'humidité pour se développer. Les gîtes larvaires peuvent être variés. A titre d'exemple :

- Chez les espèces sylvoles, on peut les trouver sur le sol des zones de forêt peu dense.
- Au Venezuela, les larves de *L. youngi* sont retrouvées dans des plantations de caféiers.
- En Inde, *P. argentipes* utilise les abris du bétail. Il pond ses œufs au-dessus du niveau maximal de montée des eaux lors des crues.
- *P. papatasi* utilise les terriers de gerbilles.

Les adultes choisissent comme aires de repos des niches fraîches et humides : chambres à coucher, latrines, caves, étables, fissures de murs, rochers, sol, végétation épaisse, arbres, trous, terriers, nids, termitières...

Connaître les différents gîtes possibles pour une zone donnée permet de piéger les phlébotomes, les éliminer, ou les prélever pour des études de terrain ou de laboratoire.

La localisation de ces espaces de repos a un impact important sur la diffusion de la maladie. Par exemple, dans des zones rurales pauvres, où les Hommes vivent à proximité de leurs animaux, les vecteurs n'ont pas grande distance à faire pour aller piquer, et donc piquent plus souvent.

Certaines espèces sont exophages (piquent à l'extérieur), d'autres endophages. Certaines sont exophiles (se reposent à l'extérieur), d'autres endophiles. Cela est important à savoir pour la lutte contre les vecteurs. En effet, les pulvérisations d'insecticides sur les murs intérieurs des maisons n'ont aucun effet sur les espèces exophiles et exophages.

- Particularités en tant que vecteurs



Du point de vue de la relation avec les leishmanies, il est important de distinguer deux types de comportement vectoriel différents, dont on reparlera plus loin :

- Les vecteurs spécifiques ne peuvent être infestés expérimentalement que par l'espèce de leishmanies qu'ils hébergent naturellement.
- Les vecteurs permissifs peuvent expérimentalement transmettre plusieurs espèces différentes des leishmanies (KAMHAWI, 2006).

#### γ. Les réservoirs

Un réservoir est défini comme un système qui permet la survie d'un parasite donné et le maintien au long terme de la population parasitaire, dans un foyer défini. Ainsi, il ne suffit pas d'être infesté par un parasite pour en constituer son réservoir. Hormis ces réservoirs majeurs, il existe tout de même des espèces hôtes qui peuvent être infestées et favoriser occasionnellement la dissémination du parasite, voire devenir des réservoirs secondaires dans des foyers différents du foyer primaire.

Dans le cas du cycle leishmanien, seules des espèces de mammifères peuvent constituer des réservoirs majeurs, de par les préférences trophiques des phlébotomes vecteurs.

Quelques lignes directrices ont été proposées afin de caractériser une espèce réservoir, en particulier dans le cas des leishmanioses :

- L'espèce réservoir doit être en effectif suffisant dans un foyer donné, pour fournir aux phlébotomes une source de nourriture abondante. C'est le cas pour les espèces grégaires. Ainsi le phlébotome peut piquer plusieurs individus sur distance et un laps de temps courts, et la probabilité de se contaminer au contact d'un individu infesté, ou de transmettre le parasite à un individu qui ne l'est pas, est plus forte.
- L'espèce réservoir offre en général au phlébotome un habitat qui lui est favorable, pour le repos ou pour la ponte. C'est le cas des terriers ou des étables par exemple.
- Les animaux doivent disposer d'une espérance de vie assez élevée pour d'une part augmenter la probabilité d'être un jour infectés, et d'autre part constituer des « réserves de parasites » au long terme.
- L'infestation ne doit pas être trop pathogène pour l'espèce réservoir. Il faut qu'il survive longtemps à l'infestation, notamment au cours des saisons de non-transmission.
- Le parasite doit se retrouver en assez grande quantité dans la peau et le sang périphérique du réservoir, afin de pouvoir être à la portée du phlébotome vecteur.
- Les leishmanies identifiées chez l'hôte réservoir, doivent être les mêmes que celles retrouvées chez l'Homme, dans le cas des leishmanioses humaines. Ce travail d'identification, facilité par les méthodes génétiques et de biologie moléculaire, est cependant délicat (OMS, 2011).

En bilan, on peut dire que le parasite est fortement dépendant du vecteur et du réservoir. Il faut réunir un certain nombre de paramètres pour que la transmission du parasite se fasse correctement. Dans la majorité des cas, elle échoue (ASHFORD, 1996).

On peut classer les leishmanioses humaines en deux grandes catégories selon l'origine de l'infestation de l'Homme :

- les leishmanioses zoonosiques, pour lesquelles les réservoirs sont constitués par des espèces animales domestiques, péri-domestiques ou sauvages.
- Les leishmanioses anthroponotiques, pour lesquelles la transmission du parasite, par l'intermédiaire du vecteur, se fait d'Homme à Homme.

Il existe cependant des exceptions, comme *L. tropica*, dont le réservoir prouvé et majeur est l'Homme, mais qui peut dans certaines régions disposer d'un réservoir animal (l'hyrax des

rochers *Procavia capensis*). Et inversement, l'Homme peut constituer un réservoir accidentel dans plusieurs formes de leishmanioses cutanées qui sont habituellement zoonosiques.

Lors de leishmanioses zoonosiques, les signes cliniques observés chez les réservoirs animaux peuvent aller de l'expression asymptomatique à la mort (exemple de la leishmaniose viscérale à *L. infantum*, mortelle chez le chien), et peuvent tout à fait différer de ceux présents chez l'Homme. Ainsi chez le paresseux sud-américain *Choloepus didactylus*, la leishmaniose provoquée par *L. guyanensis* a une localisation préférentiellement viscérale, avec une atteinte cutanée minime, alors qu'elle est cutanée localisée chez l'Homme (Pian Bois).

Les **tableaux 1 et 2** dressent une liste non exhaustive des principaux réservoirs connus de leishmanies pathogènes pour l'Homme. Nous allons en développer quelques uns, et donner en quelques mots les caractéristiques qui font d'eux de bons réservoirs.

Order	Species	Reservoir host of	Incidental host of
Primates	<i>Cercopithecus aethiops</i>		<i>L. major</i>
	<i>Homo sapiens</i>	<i>L. donovani</i> <i>L. tropica</i>	<i>L. aethiopica</i> <i>L. infantum</i>
Carnivora	<i>Canis familiaris</i>	<i>L. infantum</i>	<i>L. major</i> <i>L. major</i> <i>L. tropica</i> <i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>
	<i>C. aureus</i>		<i>L. infantum</i>
	<i>Vulpes corsac</i>		<i>L. infantum</i>
	<i>V. vulpes</i>		<i>L. infantum</i>
	<i>V. zera</i>		<i>L. donovani*</i>
	<i>Nyctereutes procyonoides</i>		<i>L. infantum?</i>
	<i>Meles meles</i>		<i>L. infantum</i>
	<i>Cenetta genetta</i>		<i>L. donovani</i>
	<i>Felis serval</i>		<i>L. donovani</i>
	Hyracoidea	<i>Dendrohyrax arboreus</i>	
<i>Heterohyrax brucei</i>		<i>L. aethiopica</i>	
<i>Procavia capensis</i>		<i>L. tropica†</i>	
<i>Procavia johnstoni</i> ( <i>P. capensis</i> )		<i>L. tropica</i>	
<i>Procavia habessinica</i> ( <i>P. capensis</i> )			
Rodentia	<i>Xerus rutilus</i>		<i>L. major</i>
	<i>Gerbillus pyramidum</i>		<i>L. major</i>
	<i>Tatera gambiana</i>		<i>L. major</i>
	<i>T. indica</i>		<i>L. major</i>
	<i>T. robusta</i>		<i>L. major</i>
	<i>Taterillus emini</i>		<i>L. major</i>
	<i>Meriones crassus</i>		<i>L. major</i>
	<i>M. erythrorus</i> ( <i>M. libycus</i> )		<i>L. major</i>
	<i>M. hurrianae</i>	<i>L. major</i>	
	<i>M. libycus</i>		<i>L. major</i>
	<i>M. meridianus</i>		<i>L. major</i>
	<i>M. shawi</i>	<i>L. major</i>	
	<i>Psammomys obesus</i>	<i>L. major</i>	
	<i>Rhombomys opimus</i>	<i>L. major</i>	
	<i>Cricetomys gambianus</i>		<i>L. aethiopica</i>
	<i>Arvicantis niloticus</i> ( <i>Arvicantis</i> sp)	<i>L. donovani ?</i> <i>L. major ?</i>	
			<i>L. tropica</i>
			<i>L. infantum</i>
			<i>L. donovani</i>
			<i>L. major</i>
	<i>L. major</i>		
		<i>L. major</i>	
		<i>L. major</i>	
		<i>L. major</i>	

Tableau 1 : Cas rapportés d'infections par *Leishmania* dans l'Ancien Monde (source : [ASHFORD, 1996](#))

Order	Species	Reservoir host of	Incidental host of
Marsupalia	<i>Marmosa cinerea</i>		<i>L. amazonensis</i>
	<i>Metachirus nudicaudatus</i>		<i>L. panamensis</i>
			<i>L. amazonensis</i>
	<i>Didelphis marsupialis</i>	<i>L. guyanensis</i> ?	<i>L. guyanensis</i>
			<i>L. panamensis</i>
		<i>L. amazonensis</i>	
	<i>D. albiventris</i>		<i>L. infantum</i> "
	<i>Philander opossum</i>		<i>L. infantum</i> †
	( <i>Metachirops opossum</i> )		<i>L. amazonensis</i>
Xenarthra (Edentata)	<i>Tamandua tetradactyla</i>	<i>L. guyanensis</i> ?	<i>L. amazonensis</i>
	<i>Bradypus griseus</i>		<i>L. shawi</i>
	( <i>B. variegatus</i> )		
	<i>B. variegatus</i>		<i>L. panamensis</i>
	<i>Choloepus didactylus</i>	<i>L. guyanensis</i>	<i>L. shawi</i>
	<i>C. hoffmanni</i>	<i>L. panamensis</i>	
		<i>L. colombiensis</i>	
	<i>Dasylops novemcinctus</i>	<i>L. naiffi</i>	
Primates	<i>Cebus apella</i>		<i>L. shawi</i>
	<i>Chiropes satanas</i>		<i>L. shawi</i>
	<i>Homo sapiens</i>		all species
Carnivora	<i>Canis familiaris</i>	<i>L. infantum</i>	<i>L. braziliensis</i>
		<i>L. peruviana</i>	<i>L. panamensis</i>
			<i>L. infantum</i>
	<i>Cerdocyon thous</i>		
	( <i>Dusicyon thous</i> )		
	<i>Lycalopex vetulus</i>		<i>L. infantum</i>
	( <i>Dusicyon vetulus</i> )		
	<i>Nasua nasua</i>		<i>L. shawi</i>
	<i>Potos flavus</i>		<i>L. amazonensis</i>
	<i>Felis catus</i>		<i>L. venezuelensis</i>
Perissodactyla	<i>Equus asinus</i>		<i>L. braziliensis</i>
	<i>E. caballus</i>		<i>L. braziliensis</i>
Rodentia	<i>Sciurus vulgaris</i>		<i>L. amazonensis</i>
	<i>Heteromys desmarestianus</i>		<i>L. mexicana</i>
			<i>L. panamensis</i>
			<i>L. amazonensis</i>
	<i>Oryzomys capito</i>		
	<i>Ototylomys phyllotis</i>	<i>L. mexicana</i> †	
	<i>Nyctomys sumichrasti</i>		<i>L. mexicana</i>
	<i>Akodon sp</i>		<i>L. panamensis</i>
	<i>A. arviculoides</i>		<i>L. braziliensis</i>
	<i>Sigmodon hispidus</i>		<i>L. mexicana</i>
	<i>Neotoma micropus</i>	<i>L. mexicana</i> §	
	<i>Rattus rattus</i>		<i>L. panamensis</i>
	<i>Coendou sp</i>		<i>L. panamensis</i>
	<i>Agouti paca</i>	<i>L. lainsoni</i>	
	( <i>Cuniculus paca</i> )		
	<i>Proechimys cuvieri</i>	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. guyanensis</i>
	<i>P. guyanensis</i>	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. guyanensis</i>
<i>P. iheringi</i>		<i>L. braziliensis</i>	
<i>P. semispinosus</i>		<i>L. panamensis</i>	

Tableau 2 : Cas rapportés d'infections par *Leishmania* dans le Nouveau Monde (source : ASHFORD, 1996)

### L'Homme *Homo sapiens* en tant que réservoir (ASHFORD, 1996) :

Il est réservoir majeur et prouvé pour *L. donovani* (leishmaniose viscérale anthroponotique) et *L. tropica* (leishmaniose cutanée anthroponotique). Lors de formes récidivantes de leishmaniose, de leishmaniose dermique post kala-azar (LDPKA), ou de co-infection avec le VIH, l'individu est rendu encore plus infectieux pour le phlébotome.

### L'animal en tant que réservoir : quelques exemples (ASHFORD, 1996) :

- Le chien (*Canis familiaris*) : photo 4 :

Principal réservoir de *L. infantum* (chagasi) et de *L. peruviana*, il constitue aussi un hôte accidentel pour un certain nombre d'autres espèces. On le retrouve dans de nombreux foyers, urbains, péri-urbains et ruraux, et dans la plupart des cas il est très proche de l'Homme, dont il dépend étroitement. La maladie provoque des lésions viscérales mais aussi cutanées (ulcères, dépilations, squamosis), ce qui rend le chien très infectieux pour le phlébotome.



Photo 4 : Chien atteint de leishmaniose (source : [cours ENVT](#))

- Rongeurs : exemple du gros rat des sables *Psammomys obesus* : **photo 5** :

Principal réservoir de *L. major* en Asie de l'Ouest et en Afrique du Nord, il possède cependant des caractéristiques limitent ses capacités de réservoir :

- sa répartition, qui dépend essentiellement de la présence de sa seule nourriture, les plantes de la famille des chénopodiacées halophiles, dont il mange les feuilles et les tiges.
- son mode de vie : en apparence grégaire, il est plutôt solitaire, chaque individu occupant un terrier.
- sa dynamique de population : des extinctions locales brutales de populations initialement denses ont été rapportées, sans pouvoir être expliquées.
- la présence d'un nombre important de prédateurs.
- sa courte durée de vie (14 mois dans la nature).

Les moyens évoqués pour réduire ce réservoir serait de favoriser la présence des prédateurs, et de limiter la prolifération des chénopodiacées qui lui servent de nourriture.



Photo 5 : *Psammomys obesus* (source : [www.waza.org](http://www.waza.org))

- Hyracoïdes : les damans : **photo 6** :

L'ordre est limité à l'Afrique et l'Ouest de l'Asie. Deux espèces de damans, à savoir *Procavia capensis* et *Heterohyrax brucei*, sont des hôtes réservoirs connus de *L. aethiopica* en Afrique orientale (Namibie, Kenya). Leurs caractéristiques en font de bons réservoirs :

- Un mode de vie grégaire, avec des colonies de plus de 50 individus.
- Une espérance de vie élevée (une dizaine d'années).
- L'habitat (des crevasses) est préservé de génération en génération. Ils ont également l'habitude de déféquer dans des endroits choisis et spécifiques, ce qui entraîne une accumulation de matière organique favorable aux phlébotomes.
- Ils côtoient les phlébotomes, mais aussi les Hommes car ils peuvent vivre très près des villages.

Les moyens évoqués pour limiter la prolifération de ces individus seraient d'une part de chasser directement au fusil ceux qui côtoient les villages les plus infectés, mais également de favoriser la présence de leurs prédateurs, comme certaines espèces d'aigles ou de mangoustes.



**Photo 6 : Damans** (source : [www.sandiegozoo.org](http://www.sandiegozoo.org))

- Edentés : les paresseux : **photo 7** :

Leur localisation est limitée au centre et au Sud de l'Amérique, ainsi qu'aux Caraïbes. Ils constituent des réservoirs majeurs dont dépendent *L. panamensis* et *L. guyanensis*.

Leur vie sociale n'est pas celle d'un réservoir habituel puisqu'ils sont assez solitaires (seules les mères partagent leur arbre avec leurs petits). Ils n'ont pas particulièrement de maison, mais se déplacent lentement d'un arbre à un autre, dans la canopée (étage supérieur de la forêt), descendant sur le sol une fois par semaine pour déféquer. On ne sait pas exactement pourquoi ils constituent de bons réservoirs, mais plusieurs hypothèses sont avancées :

- Leur longévité (20 à 30 ans).
- Leur abondance.
- Une température corporelle allant de 28 à 36°C.
- Un transit digestif très lent (la nourriture peut rester jusqu'à 1 mois dans les tube digestif).
- Une fourrure, de structure unique (pousse du ventre vers le dos), qui héberge des algues microscopiques dont la couleur permet son camouflage. Elle est aussi le refuge d'arthropodes tels que les mites et les scarabées, et l'on dit qu'elle pourrait également abriter les larves de certains phlébotomes.



**Photo 7 : Paresseux à deux doigts *Choloepus didactylus* (source : [www.buffalozoo.org](http://www.buffalozoo.org))**

*b. Le cycle parasitaire général d'une leishmaniose*

Le cycle évolutif est hétéroxène, c'est-à-dire qu'il nécessite au moins un hôte intermédiaire. Nous prendrons ici l'exemple d'un cycle entre des leishmanies, un phlébotome et un hôte humain (**schéma 2**).

Il débute lorsque le vecteur phlébotome infecté par des leishmanies prend un repas de sang sur l'hôte humain (préssumé sain). Telmophage, il dilacère le tégument avec ses pièces buccales et crée un lac sanguin dans lequel il va pouvoir se nourrir, et par la même occasion transmettre une forte charge parasitaire. Les leishmanies, sous forme promastigote, sont libérées dans le derme et sont phagocytées par les macrophages. Internalisées dans des vacuoles parasitophores, elles se transforment en amastigotes, et se divisent par scissiparité. Lorsque les macrophages éclatent, les leishmanies sont libérées et vont aller infester d'autres macrophages. Le cycle est bouclé lorsqu'un phlébotome vient effectuer un repas sanguin sur l'hôte ainsi parasité. Il ingère des macrophages contenant les amastigotes. Ces derniers échapperont à la digestion et seront régurgités sous forme amastigote lors du prochain repas de sang.

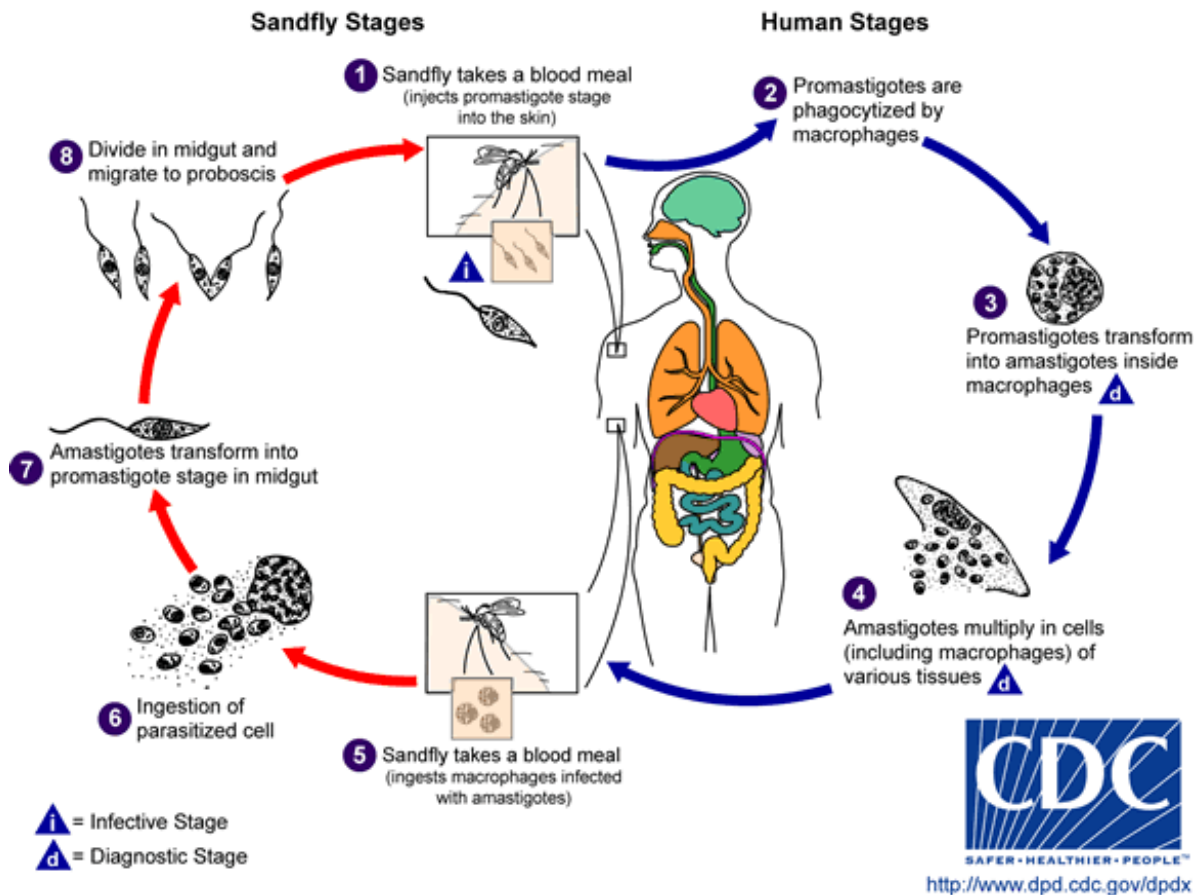


Schéma 2 : Cycle parasitaire global de la leishmaniose (source : CDC, 2013)

3 types épidémiologiques sont distingués en fonction de la nature des hôtes (BANULS, 2010) :

- Les foyers primaires : la maladie atteint principalement des réservoirs sauvages. Les cas humains apparaissent sporadiquement avec des poussées épidémiques. Ex : leishmaniose cutanéomuqueuse du Nouveau Monde.
- Les foyers secondaires : la maladie touche cette fois des réservoirs animaux proches de l'Homme, domestiques ou péri-domestiques (chiens). L'Homme est atteint de manière endémique. Ex : leishmaniose viscérale zoonotique méditerranéenne.
- Les foyers tertiaires : la transmission de la maladie est cette fois uniquement inter-humaine. L'évolution est endémique avec des poussées épidémiques. Ex : leishmaniose viscérale anthroponotique indienne.

### c. Interactions entre le parasite et le vecteur

Les explications suivantes sont relatives aux espèces de leishmanies appartenant au sous-genre *Leishmania*, dont on rappelle que le développement dans le vecteur est suprapylarien. En effet, une grande partie des études réalisées sur les interactions parasite-vecteur concernent ce sous-genre et les résultats sont extrapolés au sous-genre *Vianna*, dont le développement est péripylarien.

α. Devenir des leishmanies dans le phlébotome (KAMHAWI, 2006 ; BATES, 2007 ; RAMALHO-ORTIGAO, 2010)



Après le repas sanguin, le sang et les macrophages infestés arrivent dans la partie postérieure de l'intestin moyen du phlébotome (partie « abdominale » de l'intestin moyen). Les parasites vont alors s'employer à remonter jusqu'à la valve stomodéale (jonction entre l'intestin antérieur et la partie antérieure « thoracique » de l'intestin moyen). Pour cela, ils vont devoir passer par différents stades évolutifs qui vont leur permettre de résister à la digestion, se multiplier, et infester un hôte lors d'un prochain repas de sang. Les amastigotes vont très tôt se différencier en formes promastigotes procycliques, petites et lentes, dotées d'un court flagelle, qui vont se multiplier activement. Elles sont protégées des enzymes digestives par une matrice péritrophique (ensemble de protéines et glycoprotéines dans un réseau de microfibrilles de chitine) sécrétées par l'intestin. Au bout de 48h, le rythme de réplication ralentit et elles se transforment en promastigotes nectomonades, formes allongées et motiles qui vont se libérer de la membrane péritrophique et se fixer aux cellules épithéliales pour remonter jusqu'à l'intestin moyen « thoracique ». Le passage par cette forme est indispensable car il permet aux parasites de résister à l'intérieur du repas de sang et de ne pas être éliminés lors de la défécation. Une fois la valve stomodéale atteinte, le 4<sup>ème</sup> jour environ après le repas, les nectomonades se transforment en promastigotes leptomonades, formes plus petites qui vont entamer un second cycle de réplication. Finalement, vers le 5<sup>ème</sup> à 7<sup>ème</sup> jour après le repas, deux formes promastigotes sont présentes au niveau de la valve stomodéale :

- Les promastigotes haptomonades, dont on ne sait pas exactement si les précurseurs sont les nectomonades ou les leptomonades. Ils sont statiques, attachés au revêtement cuticulaire de la valve stomodéale, formant des anneaux concentriques qui bouchent la valve, empêchent son ouverture puis provoquent sa dégénérescence.
- Les promastigotes métacycliques, formes infestantes pour les mammifères, qui s'accumulent au niveau de la valve en attendant leur expulsion lors du prochain repas de sang.

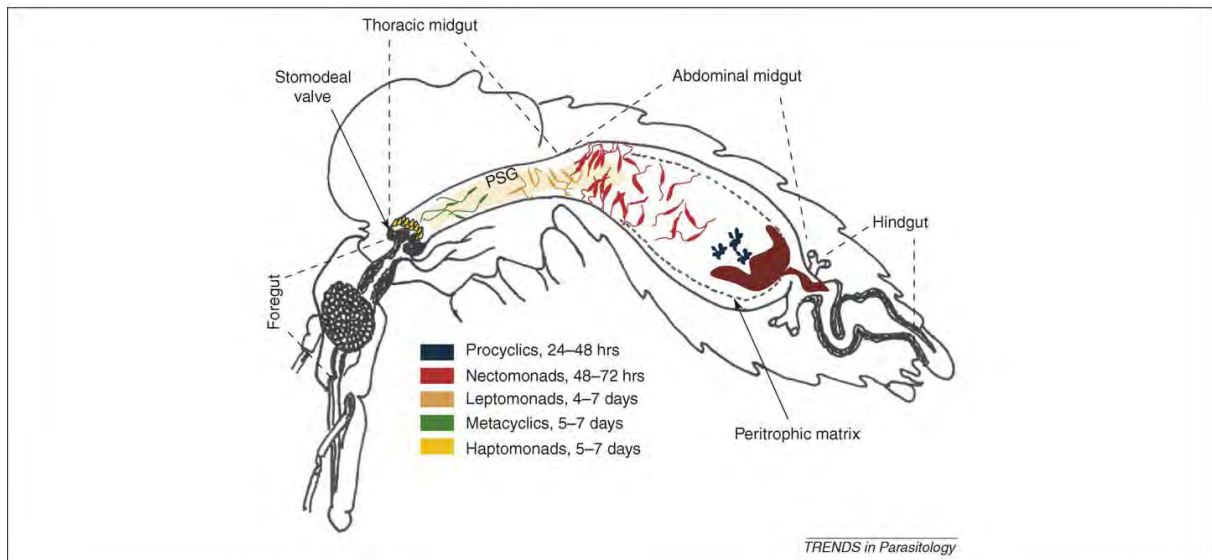
Ces étapes sont représentées sur le **schéma 3**.

Plusieurs hypothèses ont été émises quant au mode de transmission des promastigotes métacycliques.

Certains auteurs pensent que les parasites seraient « inoculés » lors du repas sanguin, c'est-à-dire que seules les formes promastigotes situées dans les proboscis du vecteur seraient impliquées dans la transmission. Cette hypothèse a été étayée par l'observation de phlébotomes « sondant » la peau de l'hôte, c'est-à-dire insérant leurs pièces buccales dans les tissus à de maintes reprises, sans pour autant réussir à prendre de repas sanguin même partiel, mais provoquant tout de même des lésions.

D'autres pensent que les parasites sont transmis par régurgitation lors du repas. Ainsi, les promastigotes formeraient un « bouchon » au niveau de la valve stomodéale, qui devrait être expulsé par régurgitation pour permettre au sang d'être ingéré lors du repas. Plusieurs facteurs, décrits plus loin, penchent en faveur de cette dernière hypothèse.

La présence de leishmanies dans les glandes salivaires de phlébotomes a également été reportée, faisant émettre une troisième hypothèse de transmission. Cette dernière est étayée par le fait que l'on sait que la salive du vecteur est injectée dans la plaie de piqûre, et que son pouvoir immunomodulateur contribue à augmenter la taille de la lésion et la charge parasitaire. Cependant, on ignore par quelle voie les leishmanies parviennent aux glandes salivaires : à partir du proboscis ou de l'intestin moyen (par traversée de sa paroi) ? De plus, étudier cette hypothèse est difficile, car peu de cas de glandes salivaires infestées sont reportés, et car il est très délicat de les disséquer sans les contaminer avec les parasites présents dans le tube digestif.



**Schéma 3 : Stades de développement des leishmanies dans un vecteur compétent (source : [KAMHAWI, 2006](#)).**

### β. Adaptations et survie des leishmanies dans le phlébotome (KAMHAWI, 2006 ; BATES, 2007 ; RAMALHO-ORTIGAO, 2010)

Au cours de leur trajet dans le tube digestif du phlébotome, les leishmanies doivent faire face à plusieurs barrières et surmonter quelques difficultés afin de pouvoir survivre, se multiplier, migrer vers l'intestin antérieur et être transmises. Un jeu d'interactions se met alors en place entre les parasites et leur vecteur.

La première barrière est l'attaque par les enzymes digestives protéolytiques sécrétées par le phlébotome très tôt après l'ingestion du repas de sang. Dans les premières heures après ce repas, les leishmanies sont en transition entre les formes amastigote et promastigote procyclique. Elles sont alors très fragiles et sensible à l'attaque des enzymes digestives. Ainsi, plus de 50% des parasites peuvent être tués dans les deux premiers jours post-ingestion. Heureusement pour elles, l'ingestion d'un repas de sang induit la synthèse physiologique d'une membrane péritrophique par le phlébotome, dans un délai de 4 heures. Elle a pour rôle de protéger la muqueuse des microbes et particules abrasives, mais ralentit également la diffusion des enzymes à l'intérieur de l'espace qu'elle délimite. Ainsi la plupart des formes de transition peuvent survivre jusqu'à leur transformation en formes flagellées plus résistantes. Les parasites, de leur côté, mettent également en place des moyens de défense contre les enzymes digestives. Il a en effet été montré que l'ingestion d'un repas contenant des leishmanies entraînait une inhibition ou un retard de l'activité de certaines d'entre elles, ainsi qu'une modulation de leur profil de transcription.

La seconde difficulté pour les formes nectomonades, est de se libérer de la membrane péritrophique. Des coupes histologiques de phlébotomes infestés par des leishmanies ont mis en évidence une dégradation de la couche de chitine en partie antérieure de la membrane péritrophique (on rappelle que la membrane péritrophique est en partie composée de microfibrilles de chitine). Elle serait provoquée par des chitinases. Cependant, l'origine de l'activation de ces chitinases reste incertaine : elles seraient sécrétées à la fois par les leishmanies, et par les cellules de l'intestin médian du vecteur. D'une part, chez les phlébotomes *P. longipalpis* et *P. papatasi*, certaines données indiquent que la transcription des gènes codant pour les chitinases serait modulée par l'ingestion d'un repas de sang. D'autre part, on a aussi identifié des gènes codant pour des chitinases sécrétées, dans un bon nombre d'espèces de leishmanies. De plus, l'activité des chitinases des phlébotomes atteint

son maximum vers 48h post-ingestion, ce qui correspond au moment où les nectomonades s'échappent de la membrane péritrophique. La concordance entre ces événements, ainsi que les faits décrits plus haut, poussent à penser que l'échappement est facilité par l'action des deux types de chitinases, qui agiraient en synergie.

Une fois libérées, les leishmanies sous leur forme flagellée doivent remonter vers la valve stomodéale. Elles sont alors soumises au péristaltisme intestinal, qui favorise l'excrétion des fractions de repas non digérées. Il a été montré qu'elles sont capables d'excréter un neuropeptide inhibiteur, qui ralentit voire stoppe le péristaltisme de l'intestin proximal et moyen. Ce mécanisme semble toutefois spécifique. En effet, expérimentalement, des lysats de *L. major* ont entraîné un arrêt complet du péristaltisme intestinal moyen de *P. papatasi* (son vecteur naturel) alors que des lysats de *L. braziliensis* et *L. donovani* n'ont entraîné que 50% et 20% d'inhibition respectivement.

L'attachement constitue également une étape indispensable dans la progression des leishmanies. Là aussi, une certaine adaptation mutuelle du parasite et du vecteur est mise en évidence. Ainsi, cet attachement est dû à des lipophosphoglycanes (LPG), qui sont les glycoconjugués les plus abondants à la surface des promastigotes. Ils se lient à des récepteurs spécifiques « lectines-like » situés à la surface des cellules de l'épithélium intestinal. La structure des LPG diffère selon les espèces de leishmanies, et ce polymorphisme est étroitement corrélé à leur capacité à achever leur développement dans certains vecteurs. C'est ce qui alimente la théorie des vecteurs permissifs et des vecteurs spécifiques. En effet, des parasites infestant des vecteurs permissifs ont des LPG de structure relativement simple, alors que des parasites infestant leur vecteur naturel restrictif ont des LPG de structure beaucoup plus complexe. Ce polymorphisme est corrélé à celui des récepteurs intestinaux. Plus la structure du récepteur est simple, plus elle a de chance de correspondre à un nombre important de LPG provenant de différentes espèces de leishmanies, et donc permettre leur attachement, alors qu'un récepteur de structure complexe ne s'adaptera qu'à un type de LPG de structure complémentaire. Une autre hypothèse a été émise, selon laquelle les vecteurs permissifs disposeraient de plusieurs types de récepteurs intestinaux, permettant ainsi l'attachement d'espèces différentes de leishmanies. A noter que durant la métacyclogenèse (passage d'une forme non infestante à une forme infestante), la leishmanie subit des altérations morphologiques au niveau de son LPG, notamment des variations de structure, dont on ne connaît pas le signal déclencheur.

Enfin, la dernière étape, et non la moindre, est la transmission des formes métacycliques infestantes à l'hôte lors du repas de sang. Cette transmission est favorisée par plusieurs composantes :

- La sécrétion de chitinases par les leishmanies, certainement les haptomonades fixées à la valve stomodéale. Ceci entraîne la dégradation de cette valve (en partie composée de chitine), sa dégénérescence et sa perte de fonction.
- La sécrétion de PSG (Promastigote Secretory Gel) par les leptomonades. Ce gel, dont la composante principale est un protéophosphoglycane filamenteux (fPPG) remplit la partie « thoracique » de l'intestin médian, en aval de la valve stomodéale, et forme un bouchon obturateur enveloppant les leptomonades et les promastigotes métacycliques.

Lorsque le phlébotome se retrouve sur son hôte, le repas de sang est empêché par ce bouchon. C'est ce qui explique le fait qu'il enfonce ses pièces buccales à plusieurs reprises dans les tissus. Cela conforte également l'hypothèse de la transmission par régurgitation, car pour se nourrir, le bouchon doit être expulsé (expulsion facilitée par la perte de fonction de la valve stomodéale). L'inoculum infectieux est donc composé des promastigotes métacycliques, du PSG et de la salive du vecteur, ces deux derniers étant considérés comme des facteurs d'exacerbation de la maladie, dont on ne sait pas lequel prévaut sur l'autre.

Enfin, il est à noter que selon certaines études, le phlébotome développe une réaction immunitaire en réponse au parasitisme dont il est victime. En effet, certaines protéines appartenant à l'immunité innée du vecteur voient leur transcription augmenter (défensines, Glycin-Rich Proteins...). Le facteur déclenchant serait la reconnaissance de molécules largement présentes à la surface des leishmanies, telles que les LPG (lipophosphoglycane) et d'autres phosphoglycane. L'infestation pourrait même déclencher l'apoptose des cellules épithéliales de l'intestin (même si le parasite ne les envahit pas et ne fait que s'y fixer), mécanisme que l'on retrouve chez le moustique infesté par *Plasmodium*.

On voit donc ici l'étendue et la complexité des interactions entre le parasite et son vecteur : ils s'adaptent l'un à l'autre tout en mettant en place des moyens de lutte l'un contre l'autre. Cette complexité explique aussi la permissivité et la sélectivité des vecteurs, à l'origine des grandes variabilités épidémiologiques que l'on décrira plus loin.

#### d. Interactions entre le parasite et son hôte

Le parasite, une fois transmis à l'hôte, doit mettre en place des mécanismes lui permettant de résister aux défenses immunitaires acquises et innées, afin de pouvoir se répliquer et disséminer. Les stratégies mises en place par les leishmanies au cours de l'infection sont multiples et multimodales. Des expérimentations *in vitro* et *in vivo*, utilisant différents hôtes et différentes espèces de leishmanies, ont permis d'émettre ou de vérifier certaines hypothèses concernant ces stratégies.

##### α. Echappement des promastigotes à la lyse par le complément

Les promastigotes métacycliques sont très résistants à l'action lytique du complément. Pour expliquer cela, plusieurs mécanismes ont été décrits, et deux antigènes semblent jouer un rôle particulièrement important :

- La glycoprotéine gp63 (métalloprotéinase), exprimée en grande quantité à la surface des promastigotes mais peu à la surface des amastigotes.
- Le lipophosphoglycane LPG, exprimé seulement à la surface des promastigotes (NADAU, 2005).

Le rôle des glycoconjugués varie selon les espèces. Par exemple, le rôle du LPG et de gp63 dans la résistance au complément a été montré chez *L. major*. En revanche, lors d'infection de souris par *L. mexicana*, les parasites dépourvus de LPG se sont révélés aussi virulents que ceux qui l'exprimaient (KAMHAWI, 2006).

Chez certaines espèces (*L. major*, *L. donovani*), il semblerait que la résistance au complément soit liée à une élongation du LPG, qui survient lors de la métacyclogenèse. Ce dernier forme alors un glycocalyx d'environ 10 nm d'épaisseur qui peut activer le complément mais qui bloque l'accès des complexes d'attaque membranaire formés (C5b-C9) à la membrane du promastigote (montré chez *L. major*).

La protéine gp63 agit également au niveau du complément. Elle inactive le C3b en C3bi, ce qui protège le parasite de la lyse cellulaire tout en permettant son opsonisation et sa phagocytose par fixation efficace au récepteur macrophagique CR3 (NADAU, 2005).

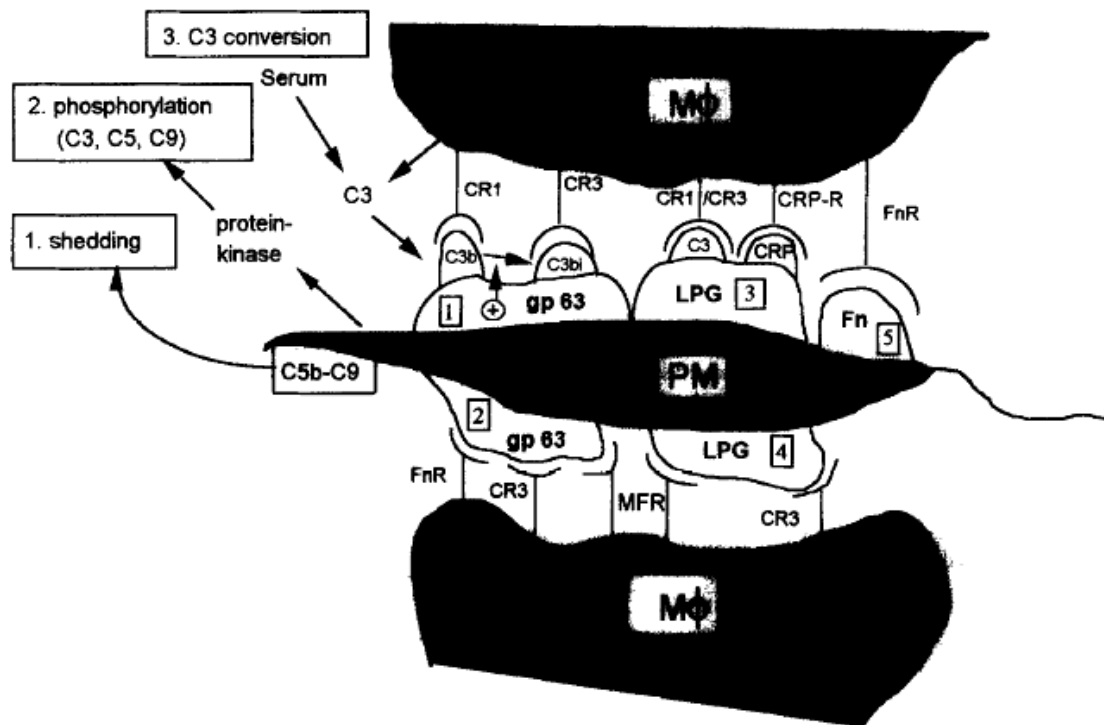
Enfin, des protéines kinases phosphorylent certaines molécules du complément (C3, C5, C9), inhibant ainsi les voies classique et alterne (BOGDAN, 1998).

##### β. Fixation aux macrophages et internalisation

La phagocytose des promastigotes a lieu grâce à de multiples interactions ligand/récepteur.

Les protéines LPG et gp63 peuvent se fixer directement aux récepteurs macrophagiques (CR3, MFR, FnR). Mais elles ont aussi la propriété de se lier à des complexes ligand/récepteur tels que C3b/CR1, C3bi/CR3, CRP/CRP-R.

L'ensemble des mécanismes décrits est représenté sur le schéma 4.



**Schéma 4 : Interactions entre le promastigote, les macrophages et le complément.** CRP = C-Reactive Protein; CRP-R = récepteur au CRP; Fn = Fibronectin; FnR = récepteur de fibronectine; gp63 = métalloprotéinase; LPG = lipophosphoglycane; mφ = macrophage ; MFR = récepteur mannose-fucose ; PM = promastigote (source : BOGDAN, 1998)

Il est à noter que la phagocytose n'est pas réservée aux seuls « phagocytes professionnels » (GNN, monocytes, macrophages). En effet, l'analyse histologique de cellules issues d'animaux expérimentalement infectés avec *L. tropica* et *L. major* a mis en évidence des parasites internalisés dans des cellules dendritiques et des fibroblastes. Ces derniers seraient capables de phagocyter des stades promastigotes et amastigotes de *L. major*, mais incapables de les tuer. Des cultures in vitro de phagocytes « non professionnels » ont aussi montré que les promastigotes pouvaient s'y différencier en amastigotes, mais étaient incapables de s'y multiplier massivement. Ceci a conduit à l'hypothèse selon laquelle ce type de cellules pourrait constituer une niche protectrice au long terme pour quelques leishmanies, en attente d'une réactivation, suite à une immunodépression par exemple (RITTING, 2000).

#### γ. Survie dans la vacuole parasitophore

Après leur internalisation par les macrophages, les promastigotes s'établissent dans des vacuoles parasitophores, où ils vont se différencier en amastigotes et se multiplier. Ces vacuoles fusionnent ensuite avec des lysosomes pour former des phagolysosomes. La survie des parasites dépend de leur capacité à passer de la forme promastigote à la forme amastigote, beaucoup plus adaptée à son nouvel environnement. Le LPG, en inhibant temporairement la formation de phagolysosomes, fait gagner du temps pour que cette métamorphose puisse se faire de manière optimale.

Les formes amastigotes expriment beaucoup moins de LPG et de gp63 à leur surface. Cependant, la gp63 joue encore un rôle puisqu'elle protège les amastigotes contre les mécanismes de cytolysse intra-phagolysosomale (BOGDAN, 1998). Ces formes sont aussi plus résistantes à l'environnement acide et hydrolytique des phagolysosomes. En effet, contrairement aux promastigotes, ce sont des organismes acidophiles dont le métabolisme est optimal pour un pH compris entre 4 et 5,5. On suppose que cette acidophilie est liée à la présence d'ATPases sur leur membrane plasmique, qui rejettent les protons du cytoplasme vers le milieu extérieur, créant ainsi un gradient utilisé pour le transport de nutriments (ANTOINE, 1994).

Les amastigotes contiennent de la trypanothione et l'enzyme trypanothione-réductase, communes aux trypanosomes, qui leur permettent de maintenir un potentiel d'oxydoréduction favorable aux activités enzymatiques. Enfin, les amastigotes contiennent des enzymes (peroxyde dismutase) qui s'opposent à l'action des intermédiaires réactionnels de l'oxygène (NADAU, 2005).

#### δ. Inhibition de la production de molécules leishmanicides

Le macrophage infecté utilise deux catégories de molécules pour détruire les parasites : les intermédiaires réactionnels de l'oxygène (anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup> et eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et l'oxyde nitrique NO.

Les métabolites de l'oxygène sont produits suite à une cascade de réactions enzymatiques mettant en jeu le complexe NADPH oxydase et l'enzyme superoxyde dismutase. Ces réactions sont initiées par l'activation de la protéine kinase C (PKC) et sa translocation du cytoplasme vers la couche interne de la membrane cytoplasmique du macrophage. Chez *L. donovani*, il a été montré que le LPG pouvait inhiber l'activité de la PKC. Il semblerait qu'il inhibe à la fois la translocation de la PKC et sa capacité de phosphoryler certains substrats. Le rôle de la gp 63 a été montré chez l'Homme (BOGDAN, 1998).

L'oxyde nitrique est un produit du métabolisme de la L-arginine, par l'action de l'enzyme NO-synthase (iNOS) suite à l'induction par des cytokines de type Th1 comme l'interféron gamma (voir partie II.1.a et schéma 7). Chez *L. major*, le LPG et d'autres glycolipides abondamment exprimés à la surface des promastigotes et amastigotes (les GIPLs) inhibent fortement l'induction de la iNOS (BOGDAN, 1998). La production de NO dépend aussi de l'environnement en cytokines : si la réaction immunitaire est déviée vers un type Th2, la NO-synthase ne pourra pas être activée.

#### ε. Déviation de la production de cytokines

Des expérimentations menées avec certaines espèces de leishmanies (*L. major*, *L. braziliensis*, *L. mexicana*, *L. aethiopica*) ont montré que ces dernières induisent la production de cytokines de type Th2, telles que l'IL-10, le TGF-β et l'IL-4. Ces dernières inhibent l'action leishmanicide des macrophages, et celle des cytokines de type Th1 (ANTOINE, 1994).

Une production réduite de cytokines de type Th1 (IL-1, TNFα) a été mise en évidence chez des macrophages humains et murins infectés par *L. donovani*. De même, une infection par *L. major* a induit une diminution d'expression de l'IL-12.

Les leishmanies interfèrent donc dans la balance immunitaire Th1/Th2 (voir partie II.1.a) en favorisant la synthèse de cytokines de type Th2 et en inhibant la production de cytokines de type Th1.

#### ζ. Altération des mécanismes de présentation d'antigène

L'induction d'une réponse immunitaire de type Th (T helper) nécessite la présentation d'antigènes à la surface des cellules infectées. Dans le cas d'une infestation parasitaire, ce sont des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II qui permettent cette présentation.

Le CMH est une famille de glycoprotéines codées par un ensemble de gènes très polymorphes. Ce sont des marqueurs du soi. Les protéines du CMH II sont synthétisées notamment par les cellules présentatrices d'antigènes (macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes B). Elles ont pour rôle de récupérer les fragments d'antigènes produits par les agents pathogènes phagocytés et de les présenter à la surface de la cellule, ce qui permet d'attirer les LTa. Une fois la reconnaissance effectuée, la liaison entre le LTa naïf et la cellule présentatrice d'antigène (CPA) se fait grâce à plusieurs interactions :

- Liaison CMH II / TCR (T-cell receptor).
- Liaison des molécules co-stimulatrices B7 de la CPA / CD 28 du LTa.
- Molécules d'ancrage.
- Stabilisation par la molécule CD4 du LTa.

Chez certaines espèces de leishmanies, des mécanismes conduisant à l'altération de ces interactions ont été mis en évidence :

- Les amastigotes de *L. donovani* semblent interférer dans la transcription des molécules du CMH II.
- Les leishmanies inhibent également l'expression de ces mêmes molécules.
- Dans des macrophages murins infectés par *L. mexicana*, les amastigotes intracellulaires internalisent et dégradent les molécules du CMH II.
- *L. donovani* inhibe l'expression de la molécule co-stimulatrice B7, rendant le macrophage insensible aux stimuli.
- Chez *L. major* et *L. donovani*, la gp63 clive sélectivement la molécule CD4 des lymphocytes T humains.
- Une altération de la présentation peut aussi avoir lieu par séquestration des antigènes leishmaniens dans la vacuole parasitophore (BOGDAN, 1998).

Les mécanismes d'échappement des leishmanies sont donc multiples et multimodaux. Ils interviennent à différentes étapes de l'infection.

Les études ayant permis de les mettre en évidence ont pour la plupart été réalisées in vitro, ce qui pose la limite de la reproductibilité in vivo. Par exemple, in vivo, la salive du vecteur semble jouer un rôle immunomodulateur important, favorable à la dissémination du parasite chez l'hôte.

Il apparaît également que ces mécanismes d'échappement sont dépendants de l'espèce de leishmanie en cause et de l'hôte infecté.

Si les leishmanies réussissent à déjouer les défenses de l'hôte, elles se multiplient dans les macrophages. La destruction de ces derniers permet le relargage des amastigotes qui vont infecter d'autres cellules.

## **2. Classification épidémioclinique des leishmanioses chez l'Homme (tableau 3)**

D'après un rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé daté de 2010, les leishmanioses, quelle que soit leur forme, sont endémiques dans 98 pays ou territoires. 350 millions de personnes sont exposées au risque, et on dénombrerait 2 000 000 de nouveaux cas par an (0,5 million de cas de leishmaniose viscérale et 1,5 millions de cas de leishmaniose cutanée).

On distingue quatre grands types de leishmanioses : les leishmanioses viscérales (LV), les leishmanioses cutanées locales (LCL), les leishmanioses cutanées diffuses (LCD) et la

leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM). Le développement de l'une ou de l'autre de ces formes dépend de plusieurs paramètres, parmi lesquels :

- L'espèce du parasite : conditionne sa pathogénicité et son tropisme. Ainsi, nous verrons que 2 espèces ont un tropisme viscéral (*L. donovani* et *L. infantum*) alors que les autres ont plutôt un tropisme cutané.
- L'hôte et sa réponse immunitaire :
  - Si la multiplication des leishmanies reste localisée aux cellules macrophagiques et dendritiques situées au point d'inoculation, une LCL se développe.
  - Dans d'autres cas, les leishmanies diffusent à l'ensemble des organes du Système des Phagocytes Mononucléés (SPM), donnant lieu à une LV.
  - Plus rarement lors de LC, les leishmanies peuvent diffuser du point d'inoculation vers d'autres sites cutanés, via les nœuds lymphatiques drainants, et provoquer une LCD. Cette réaction est liée à un défaut d'immunité.
  - Enfin, la LCM serait due à une hyper-réactivité immunitaire (DEDET, 1994 ; OMS, 2011).

Sous-genre Localisation	Leishmania			Vianna				
Ancien Monde (Europe, Asie, Afrique)	<i>L. infantum</i> <i>L. donovani</i> (LVA)	<i>L. infantum</i> <i>L. tropica</i> (LCA) <i>L. killicki</i> <i>L. major</i> <i>L. aethiopica</i>	<i>L. aethiopica</i>					
Nouveau Monde (Amérique, Océanie)	<i>L. infantum</i> (chagasi)	<i>L. infantum</i> (chagasi) <i>L. mexicana</i> <i>L. venezuelensis</i> <i>L. amazonensis</i>	<i>L. mexicana</i> <i>L. amazonensis</i>			<i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. braziliensis</i> <i>L. peruviana</i>		<i>L. panamensis</i> <i>L. braziliensis</i>
Forme clinique	L. viscérale	L. cutanée localisée	L. cutanée diffuse	L. cutanéomuqueuse	L. viscérale	L. cutanée localisée	L. cutanée diffuse	L. cutanéomuqueuse

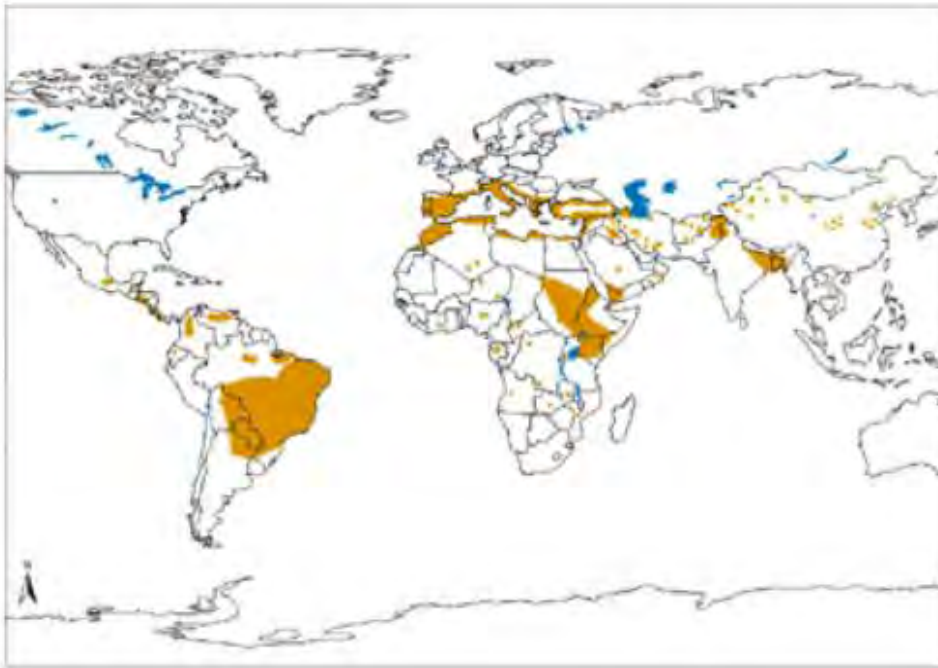
**Tableau 3 : Classification épidémioclinique des principales leishmanioses humaines (liste non exhaustive). Abréviations: LVA = leishmaniose viscérale anthroponotique; LCA = leishmaniose cutanée anthroponotique.**

#### a. Leishmanioses viscérales

Les leishmanioses viscérales sont réparties sur 4 continents, en 5 foyers majeurs : chinois, indien, est-africain, méditerranéen et sud-américain (**carte 2**). On estime que 200 millions de personnes sont exposées au risque. Leur incidence à l'échelle mondiale est de 500 000 nouveaux cas par an, dont 90 % sont recensés dans 5 pays : l'Inde, le Bangladesh, le Népal, le Soudan et le Brésil. Le portage asymptomatique reste le plus fréquent. Cependant, lorsque la maladie clinique se déclare, elle se révèle mortelle si elle n'est pas traitée (60 000 décès dénombrés par an) (MARTY, 2010 ; MILON, 2009). Ainsi, plusieurs facteurs de risques conditionnant la progression vers une leishmaniose viscérale ont été identifiés : quantité de parasites inoculée, virulence de la souche, certaines prédispositions génétiques, la malnutrition, la coexistence de maladies infectieuses (en particulier le VIH qui induit une immunodépression favorable à la multiplication des leishmanies) ou d'autres états d'immunodépression (traitements, chimiothérapies...).

2 formes différentes de leishmaniose viscérale doivent être distinguées : la leishmaniose viscérale zoonotique (LVZ) dont le réservoir principal est animal, et la leishmaniose viscérale anthroponotique (LVA) dont le réservoir principal est humain.





**Carte 2 : Distribution géographique des leishmanioses viscérales dans l'Ancien et le Nouveau Mondes (source : WHO, 2013a)**

#### α. La leishmaniose viscérale zoonotique (LVZ)

Cette leishmaniose est due au parasite *L. infantum*, aussi appelé *L. chagasi* en Amérique latine. Les canidés en constituent le principal réservoir : canidés sauvages comme les chacals, les renards et les loups (foyers primaires) ou canidés domestiques (foyers secondaires). Les vecteurs responsables sont divers, mais appartiennent tous aux mêmes genres : *Phlebotomus* dans l'Ancien Monde et *Lutzomyia* dans le Nouveau Monde.

La LVZ se retrouve principalement dans le bassin méditerranéen, en Asie, en Amérique centrale et en Amérique du sud (Brésil), et se présente sous forme sporadique ou endémique selon la zone touchée.

Chez l'Homme, le portage asymptomatique est majoritaire, même si sa prévalence est difficile à évaluer.

Les cas cliniques se caractérisent tout d'abord par une incubation longue (de quelques jours à quelques années) avec un chancre d'inoculation fugace. Les signes cliniques apparaissent souvent brutalement, avec une triade constante :

- une fièvre « folle », irrégulière dans la journée et d'un jour à l'autre.
- une splénomégalie importante, surtout retrouvée chez l'enfant, avec une impression de « gros ventre » caractéristique.
- une anémie : pâleur cutanéomuqueuse importante.

A ces signes sont associés une atteinte de l'état général, avec fatigue, perte de poids, anorexie. Une hépatomégalie peut être présente et les adénopathies sont exceptionnelles. Les analyses biochimiques mettent en évidence une pancytopénie et une hypergammaglobulinémie. La maladie est mortelle si non traitée, mais le pronostic est favorable si le traitement est précoce (OMS, 2011 ; DEDET, 1994 ; MARTY, 2012).

A l'origine, la LVZ est surtout une maladie du jeune enfant. Cependant, dans certains foyers comme le sud de l'Europe, elle tend à devenir la maladie du jeune adulte. Ainsi, les

observations chez des individus adultes sont aujourd'hui prépondérantes dans le bassin méditerranéen (70% des cas humains). La coinfection avec le VIH, le recours à la chimiothérapie ou aux traitements immunodépresseurs, dans le cadre des greffes d'organes par exemple, y sont pour beaucoup. Lors d'immunodépression profonde, des signes de dissémination parasitaire atypique (colonisation des voies digestives, des cavités péritonéale et pleurale, des poumons, de la peau) s'ajoutent à la présentation clinique classique.

Enfin, des formes subcliniques, dites « paucisymptomatiques », sont également décrites, avec des signes mineurs peu évocateurs : état subfébrile, diarrhée intermittente, adénopathie, etc. Elles évoluent vers une guérison spontanée ou une leishmaniose viscérale patente (MEKSI-SONDOSS, 2012).

### β. La leishmaniose viscérale anthroponotique (LVA)

Le parasite en cause est *L. donovani*, et le réservoir est exclusivement humain (foyer tertiaire). La LVA se retrouve sous forme endémique dans le nord-est du continent indien (centré sur l'état du Bihar), le Népal, le Soudan, l'Éthiopie et certaines provinces chinoises, avec des poussées épidémiques meurtrières (au Soudan, 100 000 morts entre 1989 et 1994 ; dans l'état du Bihar, 300 000 cas entre 1977 et 1980).

La LVA touche des patients de toutes tranches d'âge. Du point de vue clinique, la triade décrite plus haut est présente, mais les adénopathies et les hépatomégalies sont plus fréquentes. Une de ses particularités est la présence de manifestations cutanées, sous la forme d'une pigmentation noirâtre ou bistre de la peau du visage, des mains, des pieds et de l'abdomen. Cela a valu à la maladie le nom de « kala azar » (« fièvre noire » en hindi).

Dans certaines régions comme en Inde ou au Soudan, l'affection s'accompagne d'un parasitisme cutané important, ce qui mène au développement d'une leishmaniose dermique post Kala-Azar (LDPKA), quelques mois à quelques années après la guérison clinique de la LVA. En Afrique orientale et sur le sous-continent indien, jusqu'à 50% et 10% respectivement des malades atteints de LVA développent une LDPKA par la suite. Elle se manifeste par des macules hypopigmentées ou érythémateuses sur n'importe quelle partie du corps, pouvant se transformer ultérieurement en infiltrations papulaires, nodulaires ou ulcérées, notamment au niveau du visage. Une atteinte des muqueuses buccale, génitale ou conjonctivale est possible. Ces lésions sont souvent confondues avec un vitiligo ou une lèpre. Au Soudan, on distingue trois degrés de gravité dans la LDPKA :

Degré 1 : éruption maculo-papulaire ou nodulaire disséminée au niveau de la face avec ou sans lésions sur le haut du thorax ou des bras

Degré 2 : éruption maculo-papulaire ou nodulaire dense couvrant la presque totalité de la face et s'étendant au thorax, au dos, et à la partie supérieure des bras et des jambes, avec seulement des lésions disséminées sur les avant-bras et les jambes

Degré 3 : éruption maculo-papulaire ou nodulaire dense couvrant la majeure partie du corps, y compris les mains et les pieds ; il peut également y avoir atteinte de la muqueuse des lèvres et du palais.

La LDPKA guérit spontanément chez une partie des cas en Afrique, mais rarement voire jamais en Inde (OMS, 2011).

### b. Les leishmanioses cutanées

La plupart des foyers de leishmanioses cutanées se situent en Afrique, en Asie, et dans la plupart des pays d'Amérique du sud.

Chez l'Homme, les caractéristiques cliniques ont tendance à varier d'une région à l'autre et à l'intérieur d'une même région, à cause de différences touchant à l'espèce parasitaire, au type

de cycle zoonosique, à l'état immunitaire et peut-être aussi à cause du déterminisme génétique de la réponse du patient. Cependant, on admet que la forme la plus commune est caractérisée par le développement d'une ou de plusieurs lésions cutanées nécro-ulcérales bien délimitées, localisées au point de piqure du phlébotome (donc en général sur des zones découvertes) : c'est la leishmaniose cutanée localisée (LCL). L'évolution vers une forme disséminée (leishmaniose cutanée disséminée LCD) est rare, de même que l'envahissement des muqueuses (leishmaniose cutanéomuqueuse LCM).

#### α. Leishmanioses cutanées localisées (LCL)

La lésion « classique », sèche, aussi appelée « bouton d'orient » débute sous la forme d'une papule ou d'un nodule au point d'inoculation des parasites. Elle s'accroît pour atteindre sa taille définitive en une semaine environ. Une croûte se forme. Lorsqu'elle se détache, elle met à jour un centre ulcéré, de contour ovalaire ou arrondi, d'environ 3 cm de diamètre et entouré par un bourrelet inflammatoire riche en parasites. Dans la forme « humide » (surtout présente dans les zones rurales), l'ulcération est plus précoce et une surinfection se développe, associée à une adénopathie (DEDET, 1994 ; MEKSI-SONDOSS, 2012).

Ces lésions indolores peuvent être uniques ou multiples. Elles évoluent de manière chronique et guérissent en général spontanément en quelques mois à quelques années (la durée dépend notamment de l'espèce de leishmanie en cause). La cicatrice laissée est indélébile et inesthétique. Dans un petit nombre de cas, et selon le parasite en cause, une LCL peut évoluer en leishmaniose cutanéomuqueuse.

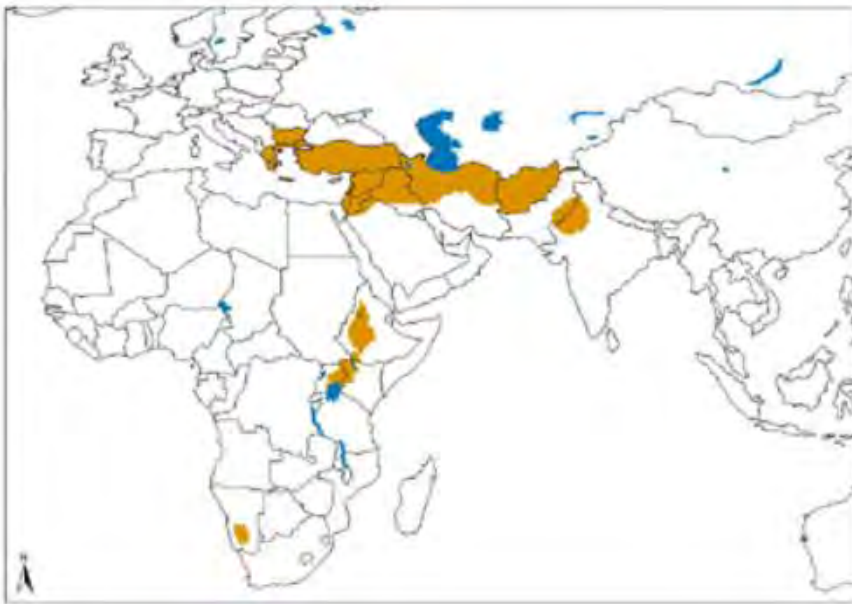
Dans l'Ancien Monde, cinq espèces sont responsables de LCL : *L. infantum*, *L. tropica*, *L. killicki*, *L. major* et *L. aethiopica*. Dans le nouveau monde, le nombre d'espèces incriminées est plus important, dont les principales appartiennent aux complexes *L. mexicana* (*L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. venezuelensis*), *L. braziliensis* (*L. braziliensis*, *L. peruviana*), et *L. guyanensis* (*L. guyanensis*, *L. panamensis*). On y retrouve aussi *L. infantum* (*chagasi*).

Leishmanioses cutanées localisées de l'Ancien Monde (OMS, 2011 ; MEKSI-SONDOSS, 2012 ; GRAMICCIA, 2005): cartes 3 et 4 :

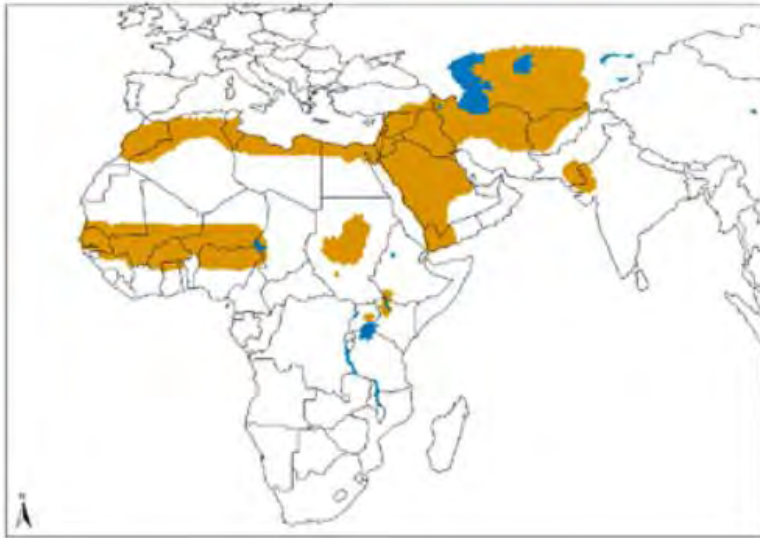
- ***L. infantum*** : déjà citée pour son implication dans la leishmaniose viscérale, elle est responsable de LCL en Afrique du Nord et dans le sud de l'Europe (où elle est la cause la plus fréquente de LCL). Elle est responsable d'une leishmaniose cutanée sporadique, de localisation rurale ou péri-urbaine, dont le réservoir prouvé est le chien. Les lésions guérissent spontanément au bout d'une année en moyenne.
- ***L. tropica*** : responsable d'une leishmaniose cutanée localisée anthroponotique urbaine, d'évolution endémique avec des poussées épidémiques. Les foyers principaux sont situés au Proche et au Moyen-Orient, ainsi qu'au Maroc. Son réservoir est l'Homme. Du point de vue clinique, une incubation de deux à huit mois précède l'apparition d'ulcérations sèches et indolores, souvent multiples, qui guérissent en une année minimum (parfois beaucoup plus).
- ***L. killicki*** : il s'agit d'un variant de *L. tropica*. Identifiée en Tunisie, puis en Libye et en Algérie, elle est responsable d'une LCL zoonotique sporadique, rurale ou péri-urbaine. Le réservoir serait le gondi (*Ctenodactylus gondii*), un petit rongeur des milieux rocheux d'Afrique du Nord. La clinique est similaire à celle décrite précédemment, mais la maladie évolue sur un mode plus chronique (4-5 ans en moyenne).

- L. major*** : elle est responsable d'une leishmaniose cutanée zoonotique rurale, à expression endémique avec des poussées épidémiques saisonnières estivo-automnales. Les foyers principaux se situent en Afrique du Nord, de l'Est et de l'Ouest, au Proche et au Moyen-Orient, ainsi qu'en Asie centrale. Le réservoir est constitué par des rongeurs sauvages comme ceux des steppes d'Asie centrale et des franges sahariennes. On peut par exemple citer la grande gerbille *Rhombomys opimus* en Asie centrale, le gros rat des sables *Psammomys obesus* dans les régions semi désertiques du nord de l'Afrique, ou encore le rat des déserts d'Inde *Meriones hurrianae* en Inde, au Pakistan et en Iran.

Chez l'Homme, la clinique est caractérisée par des formes humides surinfectées. Les lésions, très inflammées et ulcérées, apparaissent après une incubation de quelques mois, et une guérison spontanée s'opère en 2 à 8 mois.
- L. aethiopica*** : à l'origine d'une leishmaniose cutanée zoonosique endémique, que l'on retrouve en Afrique de l'Est (Ethiopie, Kenya). Le réservoir serait les damans (mammifères de l'ordre des Hyracoïdés). Très classiquement, les lésions cutanées chez l'Homme sont nodulaires et localisées, avec une ulcération tardive ou absente, et une guérison spontanée en 2 à 5 ans. Moins fréquemment, la maladie peut prendre l'aspect d'une leishmaniose bucco-nasale pouvant déformer les narines et les lèvres, ou celui d'une leishmaniose cutanée diffuse (LCD).



Carte 3 : Distribution géographique des leishmanioses cutanées dues à *L. tropica* (et espèces apparentées) et *L. aethiopica* dans l'Ancien Monde (source : [WHO, 2013a](#))



**Carte 4 : Distribution géographique de la leishmaniose cutanée due à *L. major* dans l'Ancien Monde** (source : [WHO, 2013a](#))

Leishmanioses cutanées localisées du Nouveau Monde (GRAMICCIA, 2005 ; MARTY, 2012 ; OMS, 2011) :

Elles sont concentrées en Amérique du sud et centrale (**carte 5**). Ce sont des zoonoses dont les réservoirs sont des animaux sauvages pour la plupart sylvestres (rongeurs, édentés, marsupiaux). Les parasites appartiennent aux sous-genres *Leishmania* et *Vianna* et les vecteurs appartiennent au genre *Lutzomyia*.

- ***L. infantum (chagasi)*** : s'observe en Amérique centrale principalement, dans les zones où la leishmaniose viscérale est endémique, chez les adultes et les grands enfants (chez les enfants de moins de 5 ans, c'est la leishmaniose viscérale qui prédomine). Les réservoirs sont les mêmes que dans l'Ancien monde. Les lésions se présentent sous la forme classique de LCL du Nouveau Monde.

#### **Complexe *L. mexicana* :**

- ***L. mexicana*** : espèce présente en Amérique centrale, plus précisément dans la péninsule mexicaine du Yucatan, et dans les parties nord du Guatemala, du Belize et du Honduras. Elle a pour réservoir un grand nombre de rongeurs terrestres sylvestres, dont le principal serait le « rat arboricole aux grandes oreilles » *Otodylomys phyllotis*, et chez qui elle cause de petites lésions cutanées. Le vecteur est quant à lui très attiré par les rongeurs, mais il est aussi anthropophile et pique durant la journée. *L. mexicana* est responsable de LCL « classique » chez l'Homme, mais aussi d'une variante appelée « ulcère des chicleros » ou « ulcère des gommiers ». Cette dernière touche en particulier les hommes chargés de récolter en forêt la gomme de sapotillier (appelée « chicle ») pour en faire des chewing-gums. Dans 60% des cas, elle provoque des ulcérations au niveau du cartilage des pavillons auriculaires. A noter que *L. panamensis*, *L. guyanensis* et *L. braziliensis* peuvent provoquer des lésions similaires.
- ***L. amazonensis*** : sa distribution géographique est très vaste (Brésil, Bolivie, Colombie, Equateur, Pérou, Guyane française, Panama, Vénézuéla). Le parasite est rare chez l'Homme car ses vecteurs sont peu anthropophiles. En revanche, il est fréquent chez divers rongeurs vivant en forêt, chez qui il provoque des boursoufflures

au bord des oreilles, et des lésions des extrémités. Les marsupiaux constitueraient des hôtes secondaires.

Les lésions chez l'Homme sont ulcérées et localisées sur les membres inférieurs. Il n'y a pas de formes muqueuses. En revanche, 30% des patients peuvent développer une leishmaniose cutanée diffuse (LCD), dont le traitement est difficile.

- ***L. venezuelensis*** : présente au Venezuela, les vecteurs sont inconnus et les chats domestiques en constitueraient le réservoir potentiel. Le parasite est responsable de lésions nodulaires, rarement ulcéreuses, localisées aux membres supérieurs et au visage.

#### Complexe *L. guyanensis* :

- ***L. guyanensis*** : à l'origine du « Pian-Bois », appellation que l'on donne à la LCL en Guyane et dans certaines régions du Brésil. Le vecteur connu est *Lutzomyia umbratilis*, et le vecteur principal est le paresseux. L'exposition au parasite se fait lors des trajets en forêt. La clinique montre des lésions initiales ulcérées, souvent multiples, à partir desquelles le parasite dissémine le long des trajets lymphatiques.
- ***L. panamensis*** : responsable d'une leishmaniose très voisine de la précédente, que l'on retrouve dans les pays d'Amérique centrale. Le réservoir est le paresseux, et le cycle est encore une fois lié à la forêt. Dans 2 à 5% des cas, se développe une leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM), mais moins sévère que celle due à *L. braziliensis*, et répondant mieux au traitement.

#### Complexe *L. braziliensis* :

- ***L. braziliensis*** : de tous les parasites précédemment cités dans l'Ancien Monde, il est celui qui a la distribution géographique la plus large, du sud du Mexique au nord de l'Argentine. Les réservoirs supposés sont divers mammifères que l'on a trouvés infectés : carnivores (dont chiens), rongeurs, périssodactyles. La clinique est marquée par une possible évolution vers une LCM (30 à 80 % des cas), dans un délai allant de 6 mois à 30 ans après l'apparition de la lésion primaire. Les lésions des muqueuses sont dites « métastatiques », et une dissémination lymphatique du parasite, avec adénopathies associées, est fréquemment observée.
- ***L. peruviana*** : responsable d'une LC communément appelée « Uta » du Pérou. Cette maladie est fréquente sur le versant pacifique de la cordillère andine du Pérou ainsi que dans les vallées andines d'Equateur. Les vecteurs sont des espèces anthropophiles appartenant au genre *Lutzomyia*. Les chiens en constituent le réservoir. La clinique est caractérisée par des lésions ulcéreuses, uniques ou multiples. S'il existe des localisations muqueuses, ce n'est pas par dissémination « métastatique » comme avec *L. braziliensis*, mais par contiguïté et extension locale des lésions cutanées.

#### β. Leishmaniose cutanée diffuse (LCD)

C'est une forme particulière et assez rare de leishmaniose, résultant du parasitisme de sujets anergiques par certaines espèces de leishmanies. Par anergie, on entend un déficit de

réponse immunitaire à médiation cellulaire, mis en évidence par des tests d'hypersensibilité retardée négatifs.

Elle se caractérise cliniquement par des macules, des papules, des lésions nodulaires isolées ou confluant en plaques sur l'ensemble du corps (particulièrement sur le visage et la face externe des membres). L'atteinte des muqueuses se limite à la bordure des narines et des lèvres. Ces lésions, non ulcérées la plupart du temps, sont riches en amastigotes. Elles ne guérissent pas spontanément, et se révèlent résistantes aux thérapeutiques anti-leishmaniennes (récidives fréquentes après traitement).

Initialement, la LCD était associée aux espèces *L. amazonensis* et *L. mexicana* dans le Nouveau monde, et *L. aethiopica* dans l'Ancien monde. Cependant, toute immunodépression, induite par une infection concomitante par le VIH, une transplantation ou une chimiothérapie, peut entraîner le développement d'une LCD (DEDET, 1994).

### *c. La leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM)*

Il s'agit d'une forme particulière de leishmaniose tégumentaire qui sévit en Amérique du Sud et en Amérique centrale (**carte 5**). Elle est due principalement à *L. braziliensis* et par *L. panamensis* (deux espèces du sous-genre Viannia), et peut être appelée « Espundia ».

Chez l'Homme, elle évolue en deux stades successifs. En premier lieu se développe une leishmaniose cutanée localisée telle que décrite plus haut, qui guérit spontanément en quelques mois à quelques années. Mais dans un certain nombre de cas, des métastases s'installent au niveau des muqueuses de la cavité buccale et des voies respiratoires supérieures par dissémination lymphatique ou sanguine. Les lésions nasales sont constantes, avec des nodules et une infiltration au niveau de la partie antérieure du cartilage de la cloison nasale entraînant l'obstruction des narines et ultérieurement, une perforation de la cloison avec affaissement et élargissement du nez. La peau du nez peut être épaissie, oedématiée et hyperémique. Chez un tiers des patients, d'autres muqueuses sont atteintes, à savoir par ordre de fréquence, celles du pharynx, du palais, du larynx, de la trachée et de la lèvre supérieure. Une adénopathie locale est fréquente. Au stade final, on observe des mutilations importantes, avec obstruction et destruction du nez, du pharynx et du larynx. Une surinfection bactérienne est fréquente, une pneumonie intercurrente étant la cause de décès la plus courante. La guérison spontanée est extrêmement rare.

Des atteintes similaires causées par d'autres espèces de leishmanies ont été observées chez des sujets immunodéprimés (OMS, 2011 ; DEDET, 1994).



**Carte 5 : Distribution géographique des leishmanioses cutanées et muco-cutanées dans le Nouveau Monde**  
 (source : [WHO, 2013a](#))

### 3. Modes de transmission

#### *a. Vectoriel*

Chez l'animal et chez l'Homme, il s'agit du mode de contamination principal, que nous avons longuement évoqué.

#### *b. Non vectoriels*

Il est difficile d'évaluer l'impact de la transmission non vectorielle dans les zones d'endémie, dans lesquelles la transmission vectorielle prédomine. Cependant, lorsque de nouveaux foyers sont détectés dans des zones initialement indemnes de leishmanioses et dépourvues de vecteurs, la possibilité d'autres modes de transmission est envisagée.

Plusieurs voies de transmission ont ainsi été documentées :

- La transmission horizontale : morsures, blessures, transfusions sanguines, partage d'aiguilles lors d'injections, voie vénérienne.
- La transmission verticale, lors de la gestation et/ou de la lactation.

C'est sur ces hypothèses que les chercheurs se sont par exemple appuyés pour expliquer l'apparition de foyers enzootiques de leishmaniose canine aux Etats-Unis et au Canada au début des années 2000.



Suite à l'apparition d'un foyer autochtone de leishmaniose canine dans un chenil d'English foxhounds (chiens courants) dans l'Etat de New-York en 1999, une étude a été menée d'avril 2000 à décembre 2003, aux USA et au Canada ([DUPREY, 2006](#)). Elle a mis en évidence la présence de leishmaniose dans 58 des 210 chenils ou clubs de foxhounds évalués, répartis sur 18 états des Etats-Unis et 2 provinces canadiennes.

Dans cette étude, l'hypothèse de transmission vectorielle n'est pas complètement rejetée. En effet, plusieurs espèces de phlébotomes sont connues en Amérique du nord : *Lu. anthrophora* et *Lu. diabolica*, *Lu. cruciata* et *Lu. shannoni*, cette dernière étant d'ailleurs présente dans un certain nombre de foyers dans lesquels des chenils sont atteints, et étant capable de s'infecter expérimentalement avec *L.infantum*. D'autres espèces restent encore à découvrir, comme l'atteste la mise en évidence d'une nouvelle espèce, *Lu. vexator*, dans l'état de New-York entre 2001 et 2002 ([GRAMICCIA, 2005](#)). Cependant, plusieurs éléments font plutôt pencher la balance en faveur d'une transmission non vectorielle. D'une part, des sérologies ont été réalisées sur d'autres chiens (sauvages, domestiques, refuges) dans de nombreux états, en particulier à proximité des chenils atteints. Mais aucune séropositivité n'a été mise en évidence. D'autre part, aucun phlébotome n'a été trouvé infesté près des chenils incriminés ([GIBSON-CORLEY, 2008](#)). Tout ceci suggère une transmission directe de chien à chien au sein de ces chenils de foxhounds. De nombreux facteurs favorisent ce type de transmission : vie en communauté, promiscuité, échange de chiens entre clubs (reproduction), rencontres lors de concours ou parties de chasse... Suite à cette étude, des recommandations ont été faites par le CDC (Centers for Disease Control and prevention) : éviter les échanges et les reproductions entre foxhounds de clubs différents, interdire les expositions et parties de chasses aux clubs possédant des chiens séropositifs et isoler les animaux infectés. Cependant, les bonnes résolutions ont rapidement été abandonnées, du fait de l'aspect onéreux et contraignant, ainsi que du faible taux de chiens présentant des signes cliniques évocateurs de leishmaniose.

Les transfusions sanguines sont aussi suspectées d'être à risque pour la transmission de la leishmaniose. Dans une étude parue en 2006 ([DE FREITAS, 2006](#)), des chercheurs ont réalisé des injections intrapéritonéales de sang total ou de suspension de monocytes provenant de chiens séropositifs pour la leishmaniose, à des hamsters. Les chiens donneurs présentaient des profils cliniques différents, classés en 3 catégories : asymptomatiques, peu symptomatiques et symptomatiques. Il a été démontré que les leishmanies peuvent être transmises expérimentalement, par le sang total ou les suspensions de monocytes provenant d'un donneur séropositif, quel que soit son statut clinique. Ceci souligne le problème des transfusions sanguines, et des statuts des donneurs. Howard et Callan ([HOWARD, 1992](#)) rapportent que 36% des cliniques vétérinaires qui ont participé à leur étude sur les pratiques en transfusions sanguines, n'évaluent pas le statut de leurs donneurs pour les principales maladies infectieuses. C'est souvent le cas lors de situation d'urgence où le temps est compté, ou lorsque le chien donneur appartient au même propriétaire que le receveur. La clinique sert alors de principal élément d'évaluation, mais n'est pas suffisante.

Une autre étude ([OWENS, 2001](#)) a cette fois impliqué un chenil d'English foxhounds de Pennsylvanie, dont les chiens sont inscrits depuis 1996 sur la liste des donneurs de sang du Penn Animal Blood Bank (PABB). Sur 120 chiens de ce chenil testés par IFAT *leishmania*, 30% étaient séropositifs avec un titre en anticorps supérieur à 1 :16, et 7,5% avec un titre supérieur à 1 :64. 51 chiens de races diverses ont été transfusés à partir du sang de chiens de ce chenil. Ils ont ensuite été testés par IFAT. Ainsi :

- les 25 chiens transfusés avec des concentrés de globules rouges provenant de foxhounds séronégatifs, sont restés séronégatifs.
- 3 des 7 chiens transfusés avec des concentrés de globules rouges provenant de foxhounds séropositifs, sont devenus séropositifs.
- les 9 chiens transfusés avec du plasma frais congelé issu de foxhounds séropositifs, sont restés séronégatifs.

Ces résultats ont conduit à considérer tout foxhound comme donneur potentiellement à risque. Cette race a ainsi été exclue du PABB à l'été 2000. Ils soulignent également que le plasma frais congelé ne serait pas impliqué dans la transmission de la leishmaniose.

La leishmaniose pourrait également être transmise par voie vénérienne, ce qui expliquerait en partie la découverte de foyers en zones non enzootiques et où l'on ne retrouve pas de vecteurs. A Naples, des amastigotes ont été mis en évidence sur des biopsies et ponctions testiculaires d'un chien présentant une orchite chronique consécutive à une leishmaniose (MANNA, 2012). L'hypothèse selon laquelle ces amastigotes soient à l'origine de la réponse inflammatoire locale a été émise. En effet, il a été montré que les chiens atteints de leishmaniose présentaient fréquemment des lésions génitales consécutives à la présence de ces amastigotes, en particulier au niveau de l'épididyme, du prépuce et du gland, et que l'on pouvait retrouver les parasites dans la semence (SILVA, 2009). En revanche, le tropisme des leishmanies pour l'appareil génital femelle n'a pas encore été démontré (NAUCKE, 2012). La transmission expérimentale de *L. chagasi/infantum* par mise à la reproduction de chiennes saines avec des mâles séropositifs excréant des parasites dans leur semence, s'est révélée possible (SILVA, 2009). Il a été noté que certains de ces mâles présentaient une excrétion intermittente.

En Allemagne, le cas d'une femelle boxer atteinte de leishmaniose canine associée à un lymphome malin, a été décrit (NAUCKE, 2012). Elle n'avait jamais quitté la région de Dusseldorf mis à part un court séjour au Danemark en 2005. De plus, dans cette région, aucun phlébotome n'avait été capturé depuis la mise en place de piège en 1999. La chienne a eu 3 portées, issues de 2 mâles différents. La transmission vénérienne par la semence de l'un d'eux a été suspectée sans pour autant être prouvée. Un des chiots de la troisième portée s'est révélé séropositif pour la leishmaniose.

Chez l'Homme, l'OMS indique que le partage d'aiguilles par les personnes s'injectant de la drogue peut contribuer à la transmission de la leishmaniose par voie intraveineuse (voir partie A.I.4.e).

La transmission verticale a été également documentée chez le chien. En 2008, un article décrit le cas de 2 chiots de race foxhound, issus d'une même portée, de mère séronégative lors de la mise à la reproduction mais positivée au cours de la gestation (GIBSON-CORLEY, 2008). A l'âge de 19 mois, ces chiots ont été trouvés séropositifs pour la leishmaniose (alors qu'ils étaient séronégatifs à la naissance). Ils ont rapidement présenté une leishmaniose viscérale clinique. 3 chiots issus de la même portée, étaient positifs par q-PCR *Leishmania* mais séronégatifs. Ce cas a ainsi également permis de mettre en évidence la plus grande sensibilité de la PCR par rapport à la sérologie (IFAT) dans la détection précoce de la leishmaniose.

#### **4. Facteurs de risque et extension des leishmanioses**

Nous avons mis en évidence la complexité de l'épidémiologie des leishmanioses, de par le nombre d'acteurs qui entrent en jeu et leurs caractéristiques propres. Les interactions entre hôtes, vecteurs et réservoirs sont indispensables à la diffusion et au maintien d'une maladie dans une région. Certains changements (milieux, climats, mœurs) ont des conséquences sur la nature et la fréquence de ces interactions, pouvant ainsi contribuer à l'extension des leishmanioses. Nous allons en donner quelques exemples.

##### *a. Changements d'écosystèmes*

###### *α. Construction de barrages*

La construction de barrages et l'extension de zones irriguées accroît les populations réservoirs auxquelles ces milieux sont favorables, comme les gerbilles. Ainsi, en Syrie, une forte augmentation des cas de leishmaniose cutanée a été enregistrée dans les trois ans suivant les travaux d'expansion des zones irriguées le long de l'Euphrate (GRAMICCIA, 2005).

### β. Déforestation

Elle concerne en particulier les leishmanioses cutanées du Nouveau Monde. Au départ, ces leishmanioses étaient en effet considérées comme des « maladies du travail », liées aux récoltes (ulcères des chicheros), aux opérations militaires, à la construction de routes et d'autres projets agricoles en zones d'enzootie. La déforestation large a donc été initialement proposée comme moyen de lutte contre ces leishmanioses dont le cycle met en jeu des espèces sylvestres. Le problème est que le développement de nouveaux projets contribuant à cette déforestation (construction de routes, tourisme, mines, urbanisation...) a entraîné l'arrivée de travailleurs non immunisés dans ces zones d'endémie, d'où des épidémies locales (GRAMICCIA, 2005).

### γ. Urbanisation

Elle est en lien avec les deux précédents points. Dans certaines régions des Andes par exemple, alors que le nombre de leishmanioses cutanées dues aux activités professionnelles dans les forêts a diminué, les cas de transmission péri-domestique ont augmenté, du fait de la colonisation des nouvelles plantations irriguées jouxtant les habitations par des réservoirs de rongeurs (GRAMICCIA, 2005).

Mais l'urbanisation, dans les pays pauvres, est aussi synonyme de construction de logements insalubres, où l'hygiène et les conditions de vie sont mauvaises, la nourriture et l'accès aux soins sont insuffisants et la cohabitation avec des animaux réservoirs est fréquente (OMS, 2002).

### *b. Variations climatiques*

Des études indiquent que le réchauffement climatique pourrait entraîner non seulement un allongement de la période d'activité des phlébotomes, mais aussi leur migration vers des zones initialement non endémiques. Il pourrait aussi favoriser l'arrivée de nouvelles espèces potentiellement vectrices (PIARROUX, 2012).

### *c. Mouvements de populations*

De même que les travailleurs cités ci-dessus, des mouvements de populations dus à des conflits, ou des migrations saisonnières vers les villes, contribuent à mettre en contact des personnes non immunisées avec des réservoirs installés, et ainsi à créer des épidémies locales (OMS, 2002).

### *d. Importations et voyages d'animaux réservoirs*

L'augmentation du tourisme international (et donc les déplacements de propriétaires accompagnés de leurs chiens), ainsi que des importations d'animaux en provenance de zones d'enzootie et en direction de zones indemnes, a contribué à faire apparaître des foyers de leishmaniose canine dans des zones non endémiques, comme dans le nord de l'Europe et aux Etats-Unis (**tableau 4**). Dans la plupart des cas de leishmaniose canine importée, l'infection s'est produite dans le bassin méditerranéen.

La question qui se pose alors de plus en plus est la possibilité de transmission de la leishmaniose canine directement de chien à chien ou de chien à Homme, en l'absence de vecteur. (SLAPPENDEL R. J, 1999)

Country	Year of report	Number of cases	Authors
Austria	1995	21	Edelhofer <i>et al.</i>
Belgium	1997	20	Vercammen <i>et al.</i>
Canada	1972	1	Lennox <i>et al.</i>
	1977	1	Tryphonas <i>et al.</i>
Denmark	1985	1	Bindseil <i>et al.</i>
Germany	1969	1	Saar
	1986	1	Koch
	1987	13	Reusch & Reiter
	1990	1	Luft
	1991	464	Gothe
	1997	236	Gothe <i>et al.</i>
	1998	3	Johansson <i>et al.</i>
Switzerland	1965	1	Kammermann & Bühlmann
	1977	2	Schawalder
	1980	10	Kammermann-Luscher
	1993	2	Spreng
The Netherlands	1988	95	Slappendel
	1996	1	Wolschrijn <i>et al.</i>
	1997	41	Slappendel & Teske
United Kingdom	1983	3	Longstaffe <i>et al.</i>
	1986	4	Longstaffe & Guy
	1993	3*	Nash
	1999	54	Trees
United States of America	1955	1	Thorson <i>et al.</i>
	1957	1	Gleiser <i>et al.</i>
	1967	1	Theran & Ling
	1970	1	McConnel <i>et al.</i>
	1975	1	Giles <i>et al.</i>
	1982	4	Turrel & Pool
	1983	1	Yamaguchi <i>et al.</i>
	1992	2	Binhazim <i>et al.</i>
	1992	1	Huss & Ettinger
	1993	1	Bravo <i>et al.</i>

\* Scotland

Table. Reports of canine leishmaniasis in countries outside endemic areas.

**Tableau 4 : Cas rapportés de leishmaniose canine en zones non endémiques (source : SLAPPENDEL, 1999).**

#### *e. Immunodépression : exemple de la co-infection avec le VIH*

L'association de ces deux maladies est mortelle car elles renforcent mutuellement leurs effets sur le système immunitaire. Les malades co-infectés constituent de véritables réservoirs car les leishmanies diffusent massivement, et dans des localisations « erratiques » par rapport à une leishmaniose classique (OMS, 2002). Ce sont des sources d'infestation pour le vecteur. Dans les zones endémiques pour la leishmaniose viscérale, la plupart des cas sont asymptomatiques. Selon l'OMS, une infection concomitante par le HIV multiplie par 100 à 2320 fois le risque de développer une leishmaniose viscérale clinique (WHO, 2013b).

Depuis 1994, un réseau d'épidémiologie concernant les co-infections leishmanioses/HIV a été mis en place par l'OMS (**carte 6**). Il regroupe aujourd'hui 28 institutions dans 13 pays. En 2001, 35 pays avaient rapporté des cas de coinfections. Mais sur un total de 2000 cas rapportés à l'OMS depuis le début, 90% venaient de 4 pays du sud-ouest de l'Europe : Espagne (1099 cas), Italie (335 cas), France (318 cas), Portugal (159 cas). Ceci peut être expliqué par le fait que 17 des 28 institutions mises en place étaient situées en Europe du sud-ouest (WHO, 2007; WHO, 2000 ; DESJEUX, 2003).

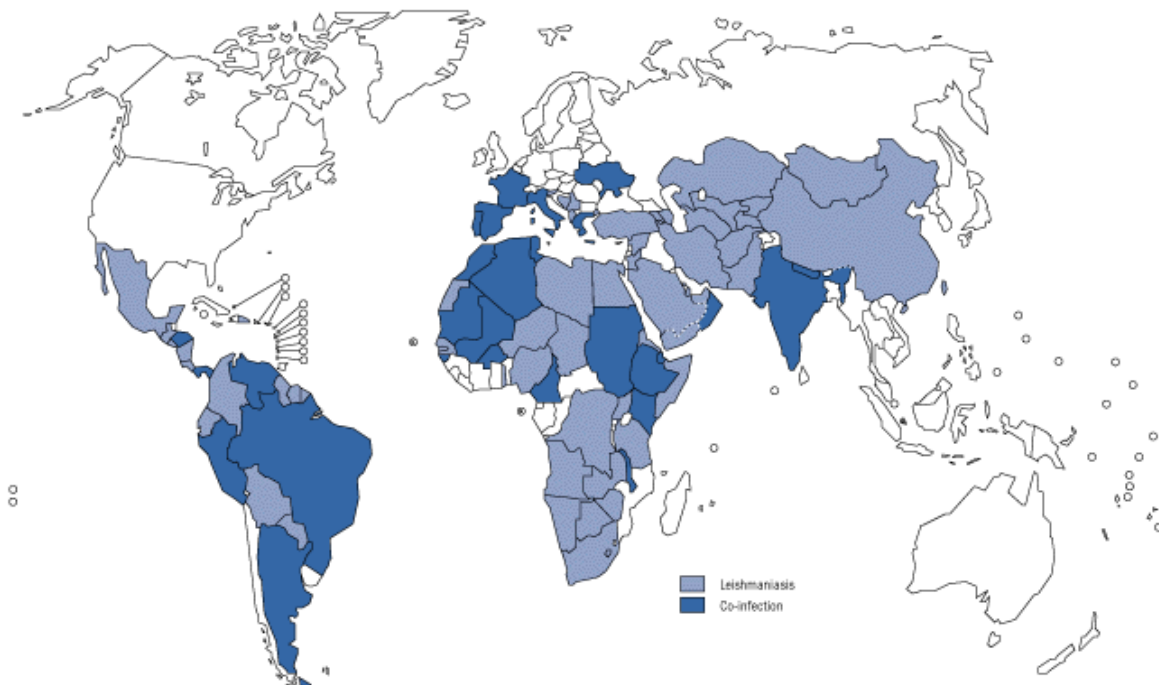
La prévalence de ces co-infections est sous-estimée dans de nombreux pays d'Asie et d'Afrique par manque de moyens de diagnostic et de surveillance. On sait cependant que le nombre de cas augmente lors de grands bouleversements tels que les conflits et les mouvements de populations. En Asie, de plus en plus de cas sont rapportés par l'Inde, pays confronté à des résistances aux traitements antimonisés anti-leishmaniens. Le problème semble exacerbé par les migrants économiques qui attrapent le HIV dans les milieux urbanisés puis retournent en milieu rural endémique pour la leishmaniose viscérale, où ils s'infectent ou réactivent la maladie par déficit immunitaire dû au HIV.

En Amérique, la plupart des cas rapportés proviennent du Brésil, qui dispose de réseaux de surveillance efficaces pour le HIV et les leishmanioses.

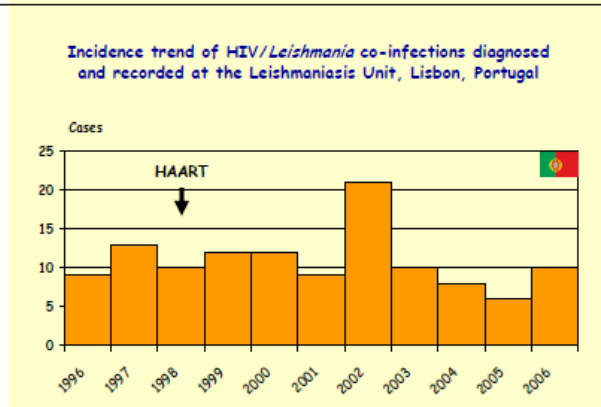
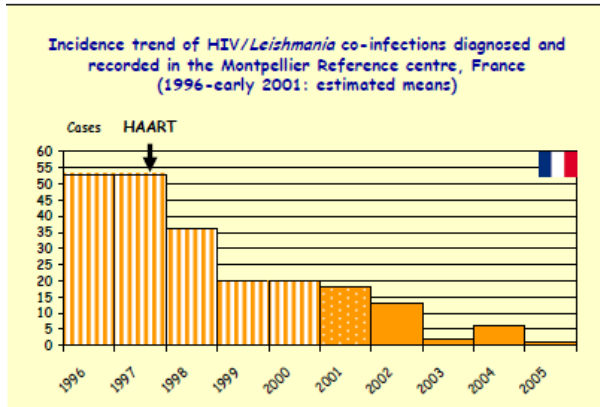
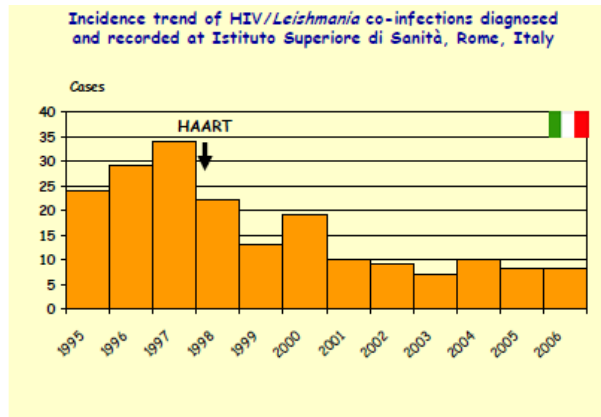
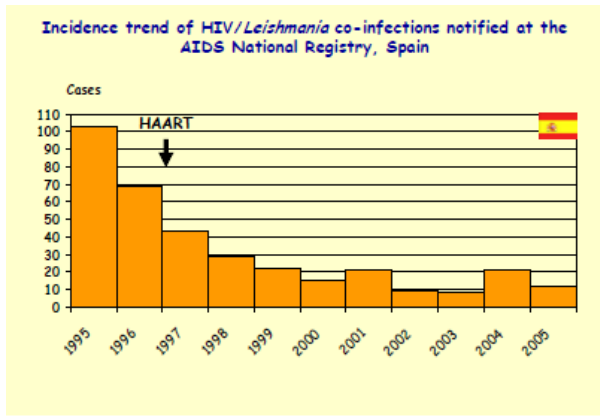
Dans le sud de l'Europe, jusqu'à 70% des cas de LV chez des adultes sont associés au HIV.

Le principal groupe à risque est constitué par les toxicomanes qui s'injectent la drogue par voie intra-veineuse, et peuvent ainsi se transmettre à la fois le SIDA et la leishmaniose.

Actuellement, les cas de co-infections sont en recul grâce à la mise en œuvre de thérapie anti-rétrovirale hautement active (HAART), en particulier dans le sud-ouest de l'Europe où le nombre de cas de co-infections a chuté depuis la mise en place de la HAART en 1997 (excepté pour le Portugal où ce taux est resté stable, **Graphique 1**). Le problème est que l'accès à ces soins dans les pays en développement reste limité (WHO, 2007).



**Carte 6 : répartition mondiale des cas de leishmaniose et de co-infection leishmaniose/HIV entre 1990 et 1998 (source : WHO, 2000).**



Graphique 1 : Incidence des cas de co-infection HIV/leishmaniose reportés dans 4 pays du sud de l'Europe, de 1995 à 2005 (source : WHO, 2007).

## II. LA LEISHMANIOSE CANINE A LEISHMANIA INFANTUM

Il s'agit d'une zoonose péri-domestique transmise traditionnellement par les piqûres de phlébotomes, dont le réservoir principal prouvé est le chien. Elle est principalement responsable de leishmaniose viscérale chez l'Homme, même si quelques cas de leishmaniose cutanée sont décrits (rapport annuel du CNRL, 2007).

### 1. Présentation

#### a. Physiopathologie (mécanismes immunitaires)

Le point de départ de cette pathologie est l'infection du chien par les leishmanies. Par la suite, les capacités de défense immunitaire de l'animal vont conditionner son statut clinique et biologique (liés au devenir du parasite), son infectiosité et sa prise en charge ultérieure. Voilà pourquoi il nous paraît important de commencer la présentation de la leishmaniose canine par sa physiopathologie.

#### α. Immunité antiparasitaire : des interactions complexes

Les réactions immunitaires spécifiques sont classiquement réparties en deux grandes entités :

- La réponse immunitaire à médiation cellulaire, dite de type TH1, dirigée en premier lieu vers les antigènes intracellulaires, contre lesquels elle lutte par la destruction des cellules infectées.
- La réponse immunitaire à médiation humorale, dite de type TH2, dirigée en premier lieu vers les antigènes extracellulaires, qu'elle détruit grâce à la production d'anticorps par les lymphocytes B différenciés en plasmocytes.

En réalité, ces deux « pôles opposés » de l'immunité peuvent interagir de manière assez complexe lors de la rencontre avec un antigène. *Leishmania infantum* semble induire une réponse mixte TH1 et TH2. C'est l'équilibre atteint entre ces deux types d'activités suite à la détection des leishmanies, qui va conditionner le devenir de l'animal : élimination du parasite, portage asymptomatique ou expression de la maladie.

Des chercheurs se sont attachés à établir un lien entre les profils cliniques et biochimiques des chiens infectés, et la réaction immunitaire mise en place. Il est apparu que les individus résistants ou asymptomatiques développaient une forte réaction immunitaire à médiation cellulaire, alors que chez les individus sensibles, la réaction cellulaire diminuait au profit d'une réaction humorale non protectrice. Nous verrons d'ailleurs (partie II.1.d) qu'il existe une corrélation positive entre le taux d'anticorps plasmatiques anti-*leishmania*, l'expression des signes cliniques et la charge parasitaire.

L'orientation vers un type de réaction immunitaire chez un individu dépend de nombreux facteurs, dont voici les plus cités :

- La génétique (voir partie II.1.f). Une étude a par exemple montré que les chiens de race Ibizan hound présentent une résistance accrue au développement de la maladie clinique, due à la prédominance d'une réaction immunitaire de type cellulaire (SOLANO-GALLEGO, 2000).
- L'environnement en cytokines.
- Le parasite lui-même : sa virulence, ses moyens d'échappement, la charge parasitaire.
- La présence d'infections concomitantes ou d'états d'immunodépression, qui peuvent altérer la réaction immunitaire ou la détourner, et ainsi entraîner la maladie clinique.
- D'autres facteurs déprimeurs comme la sous-alimentation seraient favorisants.

Il n'existe donc pas de réponse immunitaire « type », mais son orientation correcte est primordiale pour instaurer une résistance.

### β. Mécanismes immunitaires mis en jeu lors d'infestation par des leishmanies

Les promastigotes infectants sont internalisés par le macrophage et se multiplient dans une vacuole parasitophore par détournement du mécanisme de phagocytose (voir partie I.1.d). Le macrophage joue alors le rôle de cellule présentatrice d'antigène (CPA). Il possède à sa surface des molécules appartenant au Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II (CMH II). Ces dernières vont s'associer à des fragments de parasites (les antigènes) et les ramener à la surface du macrophage pour les présenter à des récepteurs antigéniques CD4 de lymphocytes T auxiliaires naïfs (LTa) situés à proximité. Cette présentation d'antigène, associée à une production d'interleukines IL-1 et IL-12 par le macrophage, entraîne la prolifération et la différenciation du LTa. A ce niveau-là, deux orientations sont possibles (**schéma 5**) :

- L'orientation vers un profil TH1 : dans un environnement riche en IL-12, le LTa se différencie en LTa1. Ce dernier produit des cytokines telles que l'interféron gamma (IFN $\gamma$ ), l'IL2 et le facteur de nécrose tumorale TNF $\alpha$ . Ces cytokines jouent un rôle crucial dans l'activation des mécanismes à médiation cellulaire et l'inhibition de la réponse à médiation humorale. Il a été montré que l'expression de l'IFN $\gamma$  dans les nœuds lymphatiques est corrélée à une charge parasitaire faible et à une protection contre la leishmaniose clinique (source : [documentation Virbac](#)). Cet interféron a plusieurs rôles :
  - Il favorise l'activité leishmanicide des macrophages infectés.
  - Il participe à l'activation des lymphocytes T cytotoxiques (LTc).
  - Il entraîne la production d'immunoglobulines de type IgG2, qui ont la propriété d'inhiber in vitro la prolifération et de diminuer la viabilité des amastigotes et promastigotes de *L. infantum* ([FREYBURGER, 2012](#)).
  - Il inhibe la réaction immunitaire de type TH2.
- L'orientation vers un profil de type TH2 : dans un environnement riche en IL-4, le LTa se différencie en LTa2. Ce dernier produit des cytokines dont les principales sont l'IL-4, l'IL-10, l'IL-5 et l'IL-6. Elles entraînent une synthèse d'immunoglobulines de types IgG1. L'IL-4 et l'IL-10 inhibent la réponse immunitaire TH1. Enfin, l'IL-10 favorise la dissémination parasitaire par son action antagoniste à celle de l'IFN $\gamma$  au niveau du macrophage.



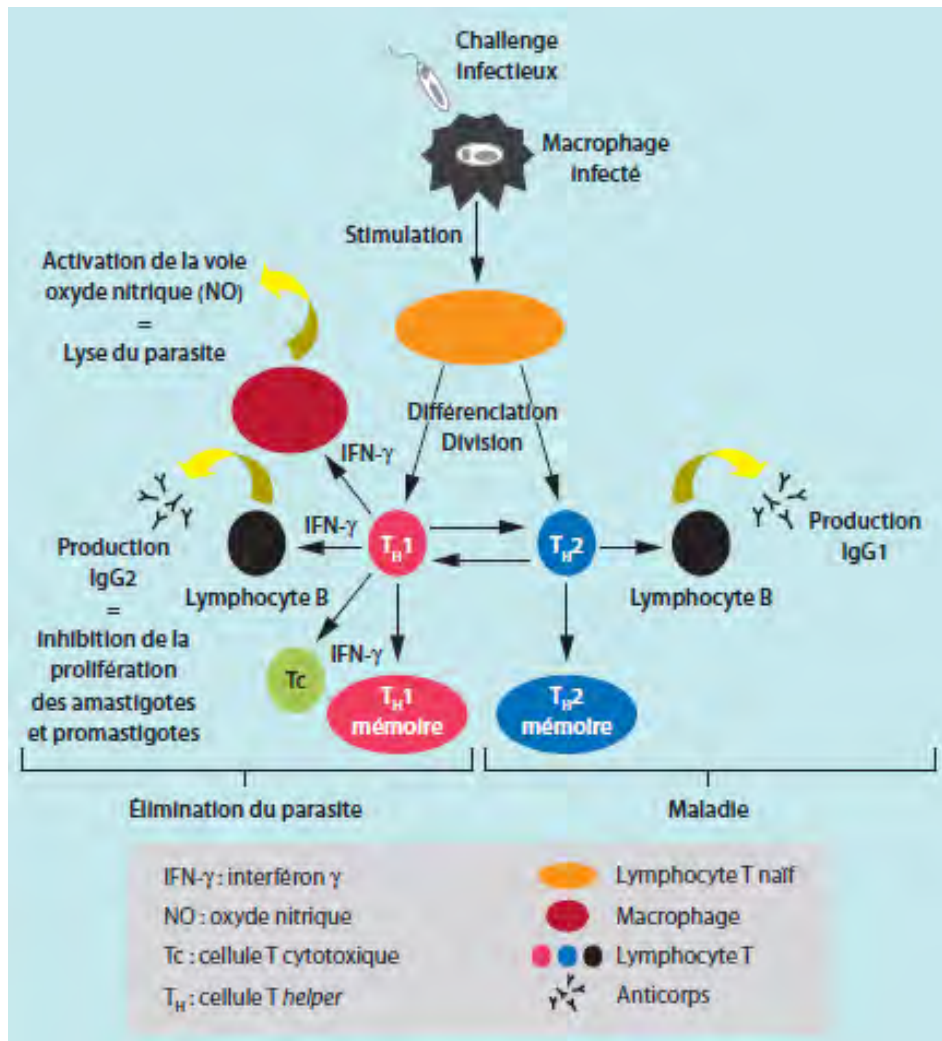


Schéma 5 : Mécanismes immunitaires simplifiés lors d'infestation par des leishmanies (source : FREYBURGER, 2012, d'après VIRBAC).

$\gamma$ . Rôle central du macrophage dans le contrôle de l'infection par les leishmanies

Le macrophage est une cellule-clé (schéma 6).

Son premier rôle est de présenter les antigènes parasitaires aux lymphocytes L naïfs, grâce aux molécules du CMH 2 situés à sa surface.

Il est aussi capable d'induire la mort des parasites intra et extracellulaires, par un mécanisme cytotoxique indépendant de l'oxygène (la production d'intermédiaires réactionnels de l'oxygène ne semble avoir de rôle très important dans les macrophages canins). Ce mécanisme repose sur une réaction enzymatique dont le substrat est l'acide aminé L-arginine. Lorsque le profil immunitaire est de type cellulaire (Th1), l'IFN $\gamma$  et le TNF $\alpha$  induisent l'activation de l'enzyme NO synthase (appelée iNOS), qui synthétise de l'oxyde nitrique (NO) à partir de la L-arginine. Ce NO est cytotoxique pour les amastigotes intracellulaires, dont il entraîne l'apoptose. Au contraire, un environnement de type Th2 (présence d'IL-10) active une autre enzyme, une arginase, qui synthétise des polyamides à partir de la L-arginine. Ces polyamides constituent des nutriments pour les leishmanies, permettant ainsi leur multiplication (schéma 7). Chez les individus sensibles, la production d'oxyde nitrique est donc déficiente, le parasite peut se multiplier dans les macrophages, se différencier en amastigotes et se libérer pour aller infecter les cellules voisines.

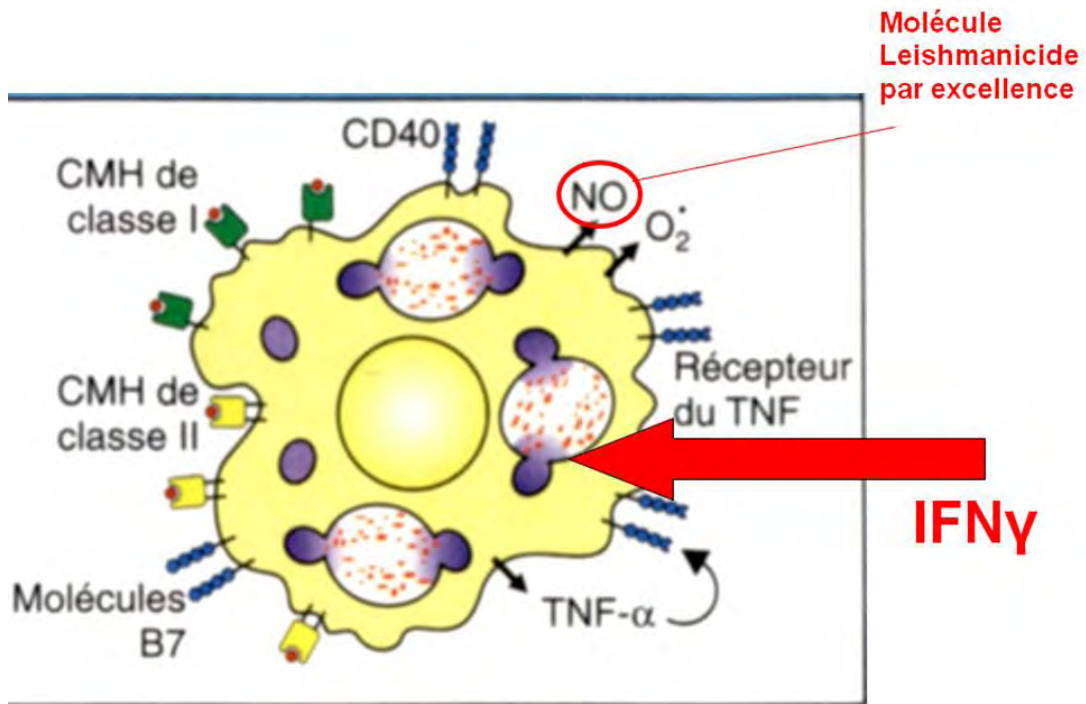


Schéma 6 : Macrophage activé (source : cours parasitologie ENVT 2010).

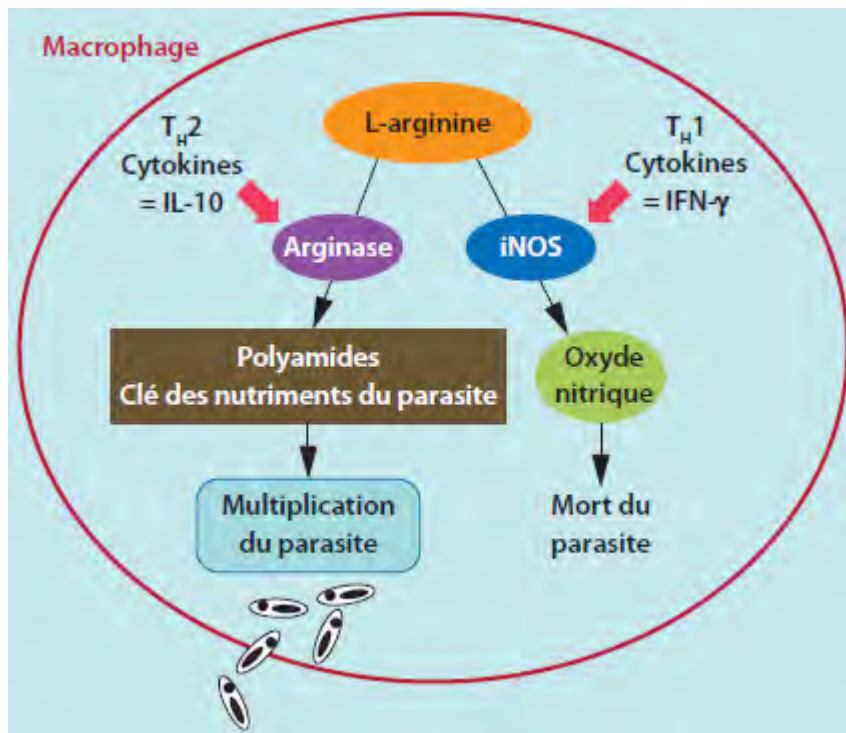


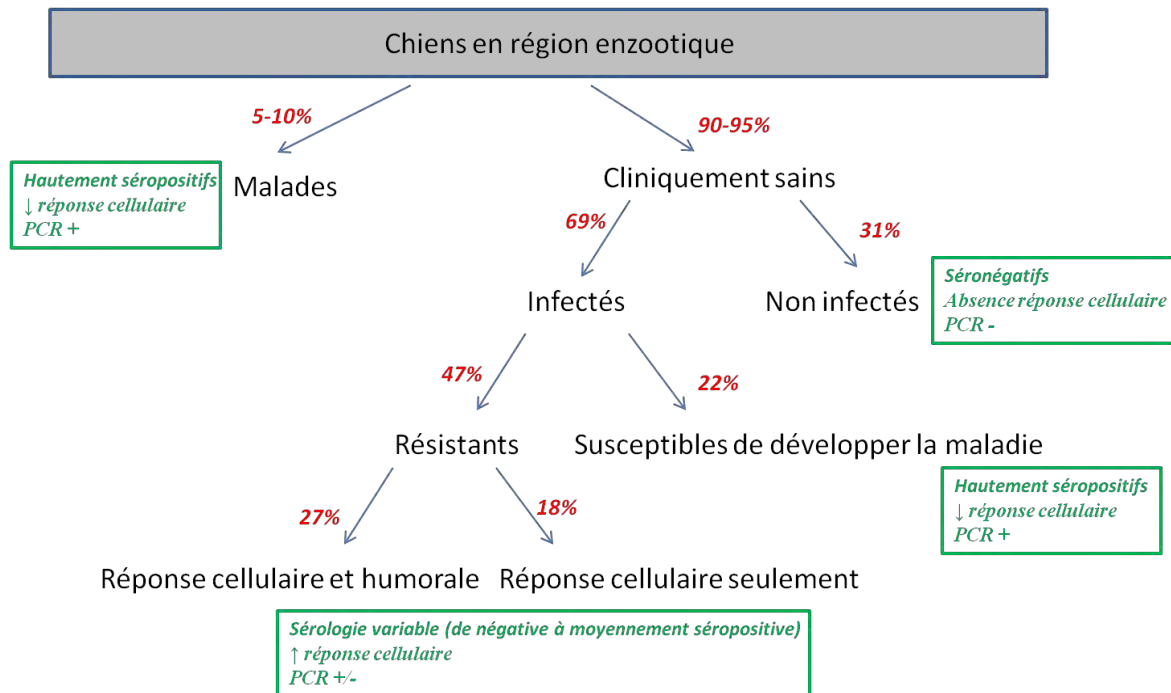
Schéma 7 : Réactions enzymatiques au sein du macrophage et impact des cytokines Th1 et Th2 sur la survie ou la lyse des leishmanies (source : FREYBURGER, 2012, d'après VIRBAC).

*b. Signes cliniques*

*α. Présentation générale*

La symptomatologie de la leishmaniose est complexe. D'une part, l'expression clinique n'est pas systématique chez les chiens infectés. En effet, un individu infecté, en fonction de la réponse immunitaire développée, ne présentera pas forcément de maladie clinique. Les différents cas de figure sont présentés sur le **schéma 8**.

D'autre part, cette pathologie systémique pouvant toucher n'importe quel organe, les signes cliniques sont très variés, et se présentent de manière isolée ou en association. Les plus courants permettent en général de détecter un « profil leishmanien », mais la présentation clinique est parfois beaucoup plus insidieuse. Enfin, la leishmaniose peut s'associer avec d'autres maladies, parasitaires par exemple, rendant le diagnostic moins aisé.



**Schéma 8 : Statuts cliniques et réponse immunitaire de chiens vivant en zone d'enzootie (inspiré de : SOLANO-GALLEGRO, 2009).**

La présentation classique, qui prend en compte les signes les plus couramment rencontrés, inclut (SOLANO-GALLEGRO, 2009):

- des lésions de la peau, des muqueuses et des phanères,
- une lymphadénomégalie généralisée,
- une baisse d'état général : perte de poids, atrophie musculaire (notamment muscles temporaux et masticateurs), léthargie, intolérance à l'effort, baisse d'appétit (« allure de vieux chien misérable et triste »),
- une hyperthermie inconstante,
- des lésions oculaires,
- une atteinte rénale,
- de l'épistaxis et des muqueuses pâles,
- des signes digestifs.

#### β. Lésions de la peau, des muqueuses et des phanères

- *Le chancre d'inoculation*

Le phlébotome pique au niveau de la truffe, du menton ou du pavillon de l'oreille, là où la peau est fine. La multiplication locale des leishmanies dans les macrophages dermiques peut donner lieu (mais pas systématiquement), en quelques semaines à quelques mois, à l'apparition d'un chancre d'inoculation. Il s'agit d'une lésion nodulaire, souvent ulcérée, riche en macrophages infectés. Elle disparaît spontanément, mais l'incubation peut encore se poursuivre des mois.

- *Alopécie*

Elle n'est pas systématique, et se présente sous forme localisée (bord des oreilles, contour des yeux, membres) ou généralisée. Les dépilations sont diffuses, jamais nummulaires.

- *Troubles de la cornéogenèse*

Ils se manifestent tout d'abord par un squamosis abondant. Les squames, psoriasiformes ou pityriasiformes, ont une couleur blanc nacré caractéristique.

Un épaissement et une pigmentation de la couche cornée sont aussi possibles : c'est l'hyperkératose.

Une autre manifestation de ces troubles est l'onychogryphose, c'est-à-dire une pousse excessive des ongles. Elle est accentuée par le manque d'usure dû à la léthargie de l'animal.

- *Nodules sous-cutanés, papules, pustules*

Ils sont de taille et de distribution variables. Ils contiennent un grand nombre de macrophages infestés de leishmanies.

Ces lésions cutanées ne sont pas prurigineuses.

Les images histopathologiques les plus fréquentes montrent des lésions inflammatoires granulomateuses ou pyogranulomateuses, de l'hyperkératose, des ulcérations et de l'acantholyse.

Cependant, il n'est pas prouvé que les troubles cutanés soient provoqués par une réaction inflammatoire en réponse à la présence des parasites. Au contraire, il a été montré qu'une peau apparemment saine de chien symptomatique peut contenir une grande quantité de leishmanies ([BANETH, 2008](#)).

Il semblerait que la matrice extracellulaire de la peau des chiens symptomatiques présente une augmentation du nombre de fibres de collagène de type III et une diminution de fibres de type I, proportionnelles à la sévérité des lésions et destructions tissulaires ([BANETH, 2008](#)).

### γ. Lymphadénopathie

Elle est la plupart du temps généralisée, les nœuds lymphatiques étant hypertrophiés et anormalement durs. Elle est due à un envahissement par les parasites, une hypertrophie et une hyperplasie des macrophages.

De manière générale, tous les organes riches en macrophages sont envahis (nœuds lymphatiques, foie, rate, moëlle osseuse). Cependant, une splénomégalie semble être moins constante chez le chien que chez l'Homme (cours parasitologie ENVT, 2010).

#### δ. Atrophie musculaire

Elle débute au niveau de la tête (muscles temporaux et masticateurs), et se généralise, donnant l'aspect de « vieux » au chien. Elle est associée à une polymyosite chronique caractérisée par la présence d'infiltrats de cellules mononucléées infestées d'amastigotes, de vasculite et de dépôt de complexes immuns dans le tissu musculaire (BANETH, 2008).

#### ε. Lésions rénales

Elles sont fréquemment retrouvées sur des chiens infectés. Parfois même, une maladie rénale est la seule manifestation clinique de la leishmaniose. Elle peut progresser d'une protéinurie asymptomatique jusqu'à un syndrome néphrotique ou une insuffisance rénale chronique. Cette dernière constitue l'une des principales causes de décès chez les chiens leishmaniens. Les lésions histopathologiques les plus communément trouvées sont une glomérulonéphrite et une néphrite tubulointerstitielle. Elles sont associées à des dépôts de complexes immuns au niveau des glomérules rénaux. L'amyloïdose est plus rare (SOLANO-GALLEGO, 2009).

#### ζ. Lésions oculaires

N'importe quelle structure intraoculaire ou périoculaire peut être touchée. On observe ainsi des lésions de blépharite (exfoliative, ulcéralive ou nodulaire), conjonctivite, uvéite. Des associations sont aussi possibles : kératoconjonctivite, kérato-uvéite. Une alopécie des paupières (« lunettes ») peut être présente. De multiples granulomes, riches en parasites, sont retrouvés sur le bord libre des paupières, la membrane nictitante ou le limbe scléro-cornéen (ROZE, 2005).

#### η. Lésions articulaires et osseuses

Les lésions articulaires se présentent sous forme de polyarthrites érosives ou non érosives, avec présence d'une grande quantité d'amastigotes dans le liquide synovial. Au niveau osseux, on observe des lésions prolifératives intramédullaires et périostées ainsi que des zones d'ostéolyse corticale et médullaire (BANETH, 2008).

#### θ. Hémorragies

On retrouve de l'épistaxis et des entérites hémorragiques. Leur origine n'est pas encore définie clairement, mais on les attribuerait plus volontiers à une réaction inflammatoire ulcéralive des muqueuses, qu'à des troubles de la coagulation (ROZE, 2005).

#### ι. Anémie

Elle se manifeste cliniquement par des muqueuses pâles. Ses causes sont multiples : évolution d'une maladie rénale chronique (par diminution de la synthèse d'EPO), destruction à médiation immune, atteinte de la moëlle osseuse, pertes sanguines.

A ces signes les plus fréquents peuvent s'ajouter des formes atypiques.

### *c. Signes biologiques*

#### α. Protéines sériques

Des chiens infectés développent la maladie clinique lorsqu'ils développent une réaction immunitaire de type TH2, c'est-à-dire à médiation humorale. Leurs analyses biochimiques sont donc marquées par une hyperprotidémie, due à une hyperglobulinémie (l'électrophorèse des protéines sériques met en évidence un pic polyclonal en bêta et/ou gamma). On note également une hypoalbuminémie (que l'on peut attribuer à une perte de protéines par le rein et/ou un défaut de synthèse par atteinte hépatique). Il en résulte une inversion marquée du rapport albumine/globulines, qui diminue.

### β. Biochimie sanguine

Les modifications biochimiques notées sont tout d'abord en lien avec la progression d'une maladie rénale : augmentation de la créatinine et de l'urée plasmatiques, augmentation de la phosphatémie, hypoalbuminémie (voir plus haut). On peut également noter une élévation des enzymes hépatiques ([SOLANO-GALLEGO, 2011](#)).

### γ. Hématologie

La leishmaniose peut souvent s'accompagner d'une anémie, normocytaire normochrome, et arégénérative si la moëlle osseuse est touchée. On note également une leucopénie ou une leucocytose, avec une monocytose.

La leishmaniose est aussi responsable de troubles de la coagulation : hémostasie primaire (thrombocytopénie), secondaire (augmentation des temps de coagulation) et fibrinolyse (augmentation des produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène). Ils sont surtout présents chez des chiens symptomatiques, chez qui un état inflammatoire, une atteinte rénale et/ou hépatique peuvent altérer la synthèse des facteurs de coagulation et le fonctionnement des plaquettes ([CIARAMELLA, 2005](#)).

### *d. Diagnostic/dépistage*

Le diagnostic de la leishmaniose n'est pas toujours aisé. En effet, comme nous l'avons vu plus haut, il faut distinguer les animaux infectés cliniquement sains chez qui on va dépister l'infection (par exemple avant de vacciner ou avant d'inscrire sur une liste de donneurs de sang), des animaux cliniquement malades chez qui on va la diagnostiquer. La méthode, l'interprétation des résultats et la conduite à tenir diffèrent quelque peu selon que l'on se trouve dans l'un ou l'autre de ces cas de figures. Cependant, quelle que soit la situation, le diagnostic/dépistage doit être le plus précoce et le plus sûr possible, afin de :

- Traiter l'animal si nécessaire.
- Le retirer des listes de donneurs de sang.
- Empêcher sa reproduction.
- L'isoler s'il vit en communauté (ex : chenil).
- Éviter de le faire voyager en zone non endémique.

Toutes ces précautions contribuent à éviter la dissémination de la maladie.

Plusieurs types d'outils diagnostiques existent :

### α. La clinique

L'examen clinique est l'action qui doit être réalisée en premier lieu lorsque l'animal arrive en consultation. Cependant, comme nous avons pu le voir plus haut, la clinique de la leishmaniose peut se révéler très polymorphe, et certaines anomalies mises en évidence

(cliniques, hématologiques, biochimiques) ne sont pas pathognomoniques de la leishmaniose. D'autre part, dans le cas d'un dépistage, les signes cliniques sont très souvent inexistantes.

### β. La sérologie

Il en existe plusieurs types : la sérologie qualitative (tests rapides d'immunochromatographie) et quantitative (IFAT, ELISA). Elle constitue l'examen complémentaire de premier choix à réaliser pour mettre en évidence une infection active. Elle se réalise à partir d'un échantillon de sang (sang total, sérum ou plasma), ce qui assure facilité et reproductibilité. Elle présente toutefois certains inconvénients. D'une part, elle ne permet pas de mettre en évidence la présence immédiate du parasite, mais seulement la production d'anticorps en réponse à une rencontre avec ce dernier. Ainsi, beaucoup d'individus (en général cliniquement sains) sont PCR positifs et séronégatifs, mais il existe aussi une faible proportion d'individus séropositifs et PCR négatifs (BANETH, 2008). D'autre part, la sérologie est en général très sensible pour détecter la maladie sur des animaux présentant des signes cliniques, car ils produisent un fort taux d'anticorps. En revanche, elle est moins sensible sur des animaux cliniquement sains (dont la production d'anticorps est beaucoup plus faible), et doit alors être complétée par des examens parasitologiques ou moléculaires (PCR). De plus, la sérologie leishmaniose présente un risque de réactions croisées avec d'autres antigènes parasitaires, tels que ceux de *Trypanosoma cruzi* (réactions décrites en Amérique du nord, du sud et centrale). Le défi est alors de choisir des antigènes les plus spécifiques possible de *Leishmania*. Enfin, ces méthodes souffrent du manque de standardisation au niveau des valeurs seuils de positivité fixées par chaque laboratoire (SOLANO-GALLEGO, 2011).

- Sérologie quantitative :

➤ *ImmunoFluorescence Indirecte : IFI, ou IFAT en anglais.*

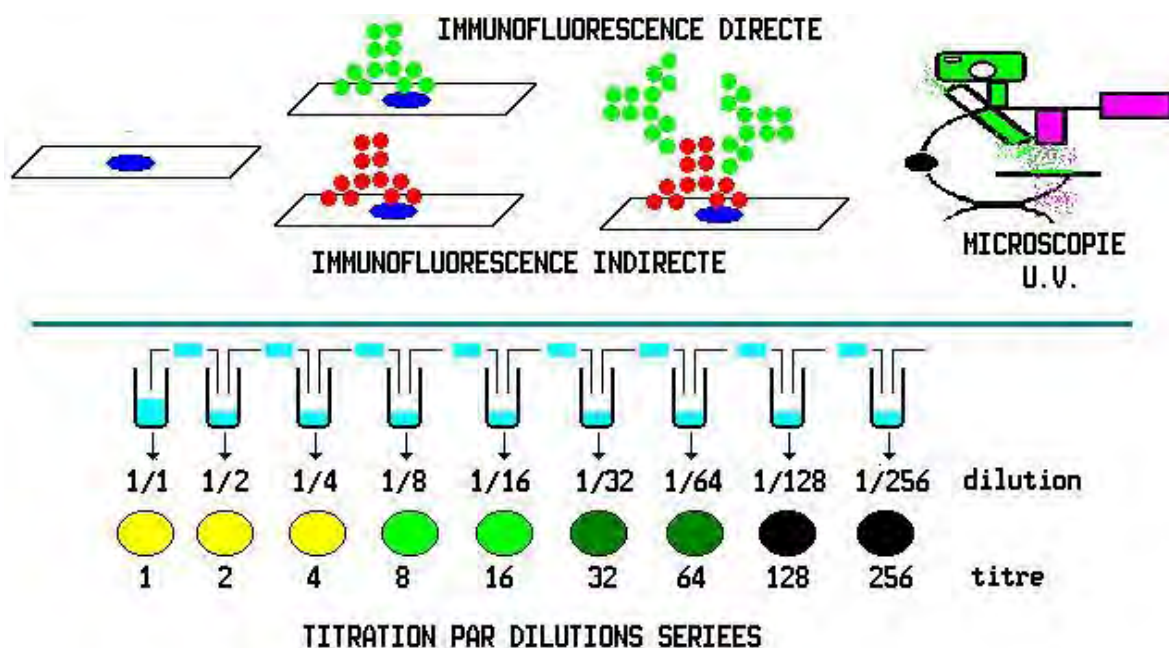


Schéma 9 : Principe de l'IFAT (source : <http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/svt/ressourc/resicien/immuno/immacmar.htm>)

### Principe :

- Au fond de puits sont fixes les antigènes leishmaniens choisis.
- On dépose le sérum du chien et on laisse incuber : s'il contient des anticorps dirigés contre les antigènes présents, ils vont s'y fixer.
- Lavage : les anticorps non fixés sont éliminés : les complexes restent fixés au fond du puits.
- On ajoute des anticorps anti-immunoglobulines canines marqués par un fluorochrome.
- Lavage : les anticorps anti-immunoglobulines non fixés sont éliminés.
- Lecture à l'aide d'un microscope à fluorescence : plus il y a de complexes (donc plus il y a d'anticorps dirigés contre les antigènes leishmaniens choisis), plus la fluorescence est intense.
  
- Les dilutions : on réalise de multiples dilution du sérum du patient (facteur 2, voir ci-dessus). Le test IFI est réalisé pour chacune des dilutions. Le laboratoire fixe un seuil de positivité pour la fluorescence. Le titre est donné par la dernière dilution donnant une fluoresce positive. Il est noté « 1:x » : plus le titre est élevé (« x » grand) et plus le sérum du patient contient d'anticorps initialement. Sur l'exemple ci-dessus, le titre est de 64 (noté 1:64).

Chaque laboratoire fixe un titre limite au-dessus duquel le test est considéré comme positif. Il varie en général entre 1:40 et 1:60 mais il n'y a pas de standardisation. Un titre en anticorps anti-*Leishmania* élevé est corrélé à une forte charge parasitaire et une forte probabilité de développer des signes cliniques ([SOLANO-GALLEG0, 2009](#)).

### ➤ *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay : ELISA.*

### Principe :

- Au fond de puits sont fixes les antigènes leishmaniens choisis.
- On dépose le sérum du chien et on laisse incuber : s'il contient des anticorps dirigés contre les antigènes présents, ils vont s'y fixer.
- Lavage : les anticorps non fixés sont éliminés : les complexes restent fixés au fond du puits.
- Ajout d'anticorps anti-immunoglobulines canines, marqués par une enzyme.
- Lavage : les anticorps anti-immunoglobulines non fixés sont éliminés.
- Ajout du substrat incolore, qui va se colorer en se fixant aux enzymes présentes.
- Mesure spectrophotométrique de la réaction colorée : plus il y a de complexes (donc plus il y a d'anticorps dirigés contre les antigènes leishmaniens choisis), plus la réaction colorée sera intense. Cette réaction est quantifiée. Chaque laboratoire a un seuil de positivité et des valeurs de référence.



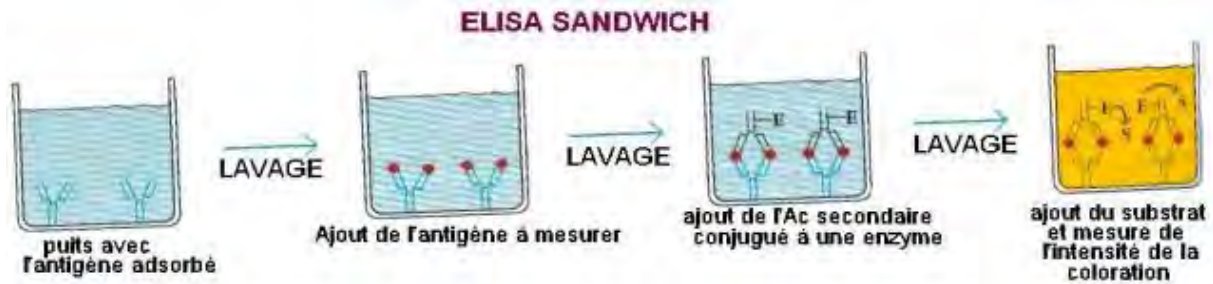


Schéma 10 : Principe de l'ELISA dit "en sandwich" (source : <http://acces.ens-lyon.fr/biotic/immuno/html/elisavar.htm>)

La sérologie quantitative permet de préciser si le test réalisé est négatif, douteux, faiblement, moyennement ou fortement positif. Ainsi, le laboratoire VIRBAC considère qu'un test est fortement positif si la valeur trouvée est plus de 4 fois supérieure à la limite de positivité fixée par le laboratoire en charge de ce test. En deçà, le test est faiblement (voir moyennement) positif. Cette différenciation a des conséquences sur la suite de la démarche diagnostique à tenir. En effet, un résultat fortement positif, associé en général à des signes cliniques, est fortement conclusif. En revanche, un résultat douteux, faiblement ou moyennement positif nécessite une investigation plus poussée (cytologie, histologie, PCR) pour confirmer ou infirmer la présence du parasite, ainsi qu'un suivi sérologique régulier. Un résultat négatif est normalement conclusif, et doit amener à envisager d'autres hypothèses diagnostiques. En revanche, si les signes cliniques associés sont fortement évocateurs d'une leishmaniose, d'autres investigations doivent être réalisées.

- Sérologie qualitative : tests rapides :

Ces tests par immunochromatographie ont pour but d'être réalisés en consultation. Rapides, peu onéreux, ils sont par exemple utilisés pour un dépistage avant vaccination. Leur principal inconvénient est justement de ne pouvoir donner qu'une réponse « positive » ou « négative ». Le degré de positivité est évalué subjectivement par le praticien en fonction de l'aspect de la bande colorée qui apparaît. Dans tous les cas, un résultat positif doit être précisé par une sérologie quantitative. Un résultat négatif est considéré comme conclusif, mais encore une fois, il doit être corrélé aux données cliniques, biologiques et anamnestiques.

Le laboratoire VIRBAC a mis au point un test rapide d'immunochromatographie, nommé Speed Leish K™, qui a pour objectif de remédier aux principaux inconvénients liés aux examens sérologiques (évoqués plus haut) tout en conservant leurs principales qualités. Les antigènes utilisés dans ce test sont des kinésines, protéines spécifiques produites en grandes quantités lors de la division cellulaire des leishmanies et impliquées dans les mécanismes de division cellulaire. Elles sont de plus très immunogènes à tous les stades de l'infection. L'utilisation de telles antigènes permettrait de s'affranchir des réactions croisées (source : documentation Virbac). De plus, le laboratoire Virbac, qui commercialise également le vaccin Canileish® contre la leishmaniose, assure que ces kinésines ne font pas partie des protéines excrétées/sécrétées utilisées dans le vaccin. Le test ne détecte donc pas les anticorps induits par la vaccination.

Le principe de Speed Leish K™ est simple : on dépose une goutte d'échantillon (sang total, plasma, sérum) et 5 gouttes de réactif. Des complexes se forment entre les particules colorées de conjugué et les anticorps anti kinésines de *Leishmania infantum* présents dans le prélèvement. Ces complexes migrent en une vingtaine de minutes par capillarité et sont

capturés par les antigènes spécifiques (kinésines) immobilisés sur la membrane, formant une bande rose par accumulation des particules colorées. Le mélange continue ensuite à migrer jusqu'à l'extrémité de la membrane où les particules restantes forment la bande de contrôle. (source : notice Speed Leish K™, VIRBAC).

Une étude (CHENE, 2010) a eu pour objectif de déterminer la sensibilité et la spécificité de ce test et de la comparer aux résultats obtenus par la méthode de référence, à savoir l'IFAT. Elle a conclu à une sensibilité de 98%, une spécificité de 100% et un indice de concordance par rapport à l'IFAT de 98,5%.

L'utilité de Speed Leish K™ réside en particulier dans le dépistage pré-vaccinal, puisque, comme nous le verrons plus loin, la vaccination contre la leishmaniose n'a montré d'efficacité que sur des chiens séronégatifs. Cependant, dans le cas où le test est positif, le résultat doit être confirmé et précisé par des méthodes de sérologie quantitative. En cas de test négatif mais avec une clinique fortement suspecte, il convient d'aller plus en avant dans l'exploration, aux moyens d'autres techniques.

### γ. Le diagnostic moléculaire

#### - La PCR (Polymerase Chain Reaction):

La PCR consiste à amplifier une partie spécifiquement choisie du matériel génétique du parasite, afin de la rendre visible par électrophorèse.

Elle est plus sensible et plus spécifique que la sérologie, et est utilisée pour trancher sur la présence du parasite lorsque cette dernière donne des titres douteux, faiblement ou moyennement positifs. Elle permet également de s'affranchir des réactions croisées éventuelles.

La sensibilité de cette technique dépend notamment du nombre de copies du fragment à amplifier que contient le parasite. Plus ce nombre est élevé et plus l'amplification sera visible, même sur un faible nombre de parasites : la sensibilité sera élevée. En revanche, si l'on choisit un fragment présent en très peu de copies par parasite, il faudra un grand nombre de parasites pour que l'amplification soit visible : la sensibilité sera plus faible. Par exemple, dans une leishmanie, la PCR peut permettre d'amplifier une séquence d'ARN ribosomique (ARNr) ou une séquence d'ADN kinétoplastique (ADNk). Il a été montré que la PCR basée sur l'ADNk est plus sensible que celle basée sur l'ARNr pour la détection de *Leishmania* dans le sang de chien. En effet, le gène de l'ARNr utilisé est présent en 40 à 200 copies par parasite alors que celui de l'ADNk est présent en environ 10 000 copies par parasite.

L'ADN à amplifier peut être extrait de tissus, de sang ou de fluides biologiques. La plus grande sensibilité semble être obtenue sur des échantillons de moelle osseuse, nœuds lymphatiques, peau, rate ou conjonctive. La PCR sur sang total, buffy coat ou urine serait moins sensible.

Cette technique possède comme toutes les autres des limites. En effet, une PCR positive signifie que l'ADN du parasite est présent dans l'échantillon, mais on ne peut pas savoir si ce parasite est vivant ou capable de se multiplier. Elle n'est donc pas un outil permettant de mettre en évidence un phénomène actif. C'est ainsi qu'une grande partie des chiens infectés cliniquement sains sont PCR positifs mais pas ou très peu positifs en sérologie quantitative. Ceci a un impact sur la conduite à tenir puisque ces chiens-là peuvent ne jamais développer de signes cliniques : les traiter n'est pas nécessaire, mais il faut effectuer des suivis sérologiques et cliniques réguliers.

#### - PCR nichée :

Pour initier l'amplification d'un fragment d'ADN dont on connaît la séquence, on utilise des amorces, complémentaires des extrémités du fragment en question. Or ces amorces

peuvent aussi s'hybrider à des endroits non désirés. Pour éviter l'hybridation non spécifique, on réalise une PCR « nichée », c'est-à-dire en réalité 2 PCR à la suite : après avoir récupéré les produits de la première amplification (produits souhaités et erratiques), on les met à incuber avec un autre couple d'amorces, complémentaires d'une autre séquence « nichée » dans le gène voulu. La probabilité pour que ces amorces s'hybrident aussi sur les produits d'amplification erratiques est très faible.

- PCR en temps réel (quantitative):

Ici, l'amplification génère de la fluorescence, qui est mesurée. L'augmentation de la fluorescence au fur-et-à-mesure des cycles d'amplifications est représentée sur une courbe. On note Ct le nombre de cycles au bout duquel la courbe passe au-dessus d'un seuil de détection. Plus il y a d'ADN parasite au départ, plus le seuil sera dépassé rapidement (dont plus Ct sera petit).

Cette méthode présente plusieurs avantages. D'une part, elle est la plus sensible des 3 techniques de PCR décrites. D'autre part, elle est quantitative dont est utile pour le suivi des animaux leishmaniens en cours de traitement ([SOLANO-GALLEGO, 2009](#)).

#### δ. La parasitologie

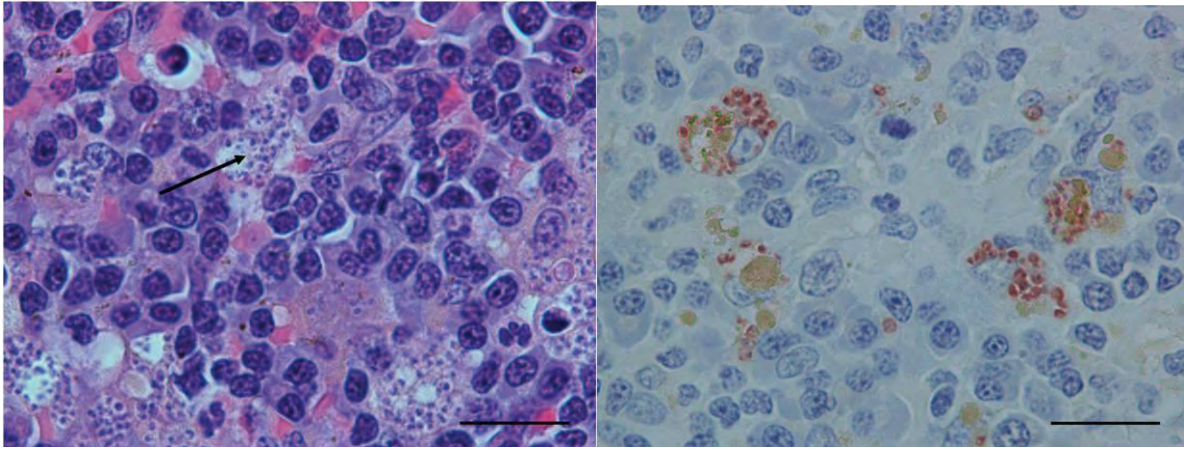
- Observation directe au microscope : cytologie, histologie :

On peut réaliser des étalements de nœuds lymphatiques et de moelle osseuse (cytologie) ou des coupes histologiques à partir de biopsies (peau, rate, ou tout autre tissu ou organe suspect). Cette technique permet de visualiser directement les amastigotes et d'exclure d'autres diagnostics différentiels. De plus, la cytologie est peu invasive. Mais elle présente plusieurs inconvénients. Tout d'abord, elle prend du temps. De plus, elle nécessite une certaine expérience de la part de l'observateur. On peut aussi ajouter qu'elle ne permet pas de déterminer le statut immunologique de l'animal. Elle serait enfin peu sensible pour des animaux asymptomatiques. Elle est donc souvent associée à de l'immunohistochimie, et est surtout utilisée pour confirmer un diagnostic quand la clinique et d'autres examens entraînent une forte suspicion ([MIRO, 2008](#) et [SOLANO-GALLEGO, 2011](#)).

- Immunohistochimie :

Souvent utilisée en complément de l'histopathologie, elle permet d'augmenter sa sensibilité lorsque les parasites sont très peu nombreux ([MIRO, 2008](#)).

Les parasites ont à leur surface des antigènes connus. La méthode est donc similaire à l'ELISA ou l'IFAT dans son principe. Elle consiste donc à faire incuber les échantillons avec du sérum de chien infecté par *L. infantum* (contenant donc des anticorps dirigés contre les antigènes de surface des amastigotes). Puis on lave et on fait incuber le tissu avec une solution contenant des anticorps anti-immunoglobulines canines, liés à un marqueur enzymatique. Après lavage et ajout du substrat de cette enzyme, se produit une réaction colorée qui met directement en évidence les parasites ([SILVA, 2005](#)).



**Photo 8 : Coupes de rate de chien cliniquement malade. A gauche : histopathologie : les amastigotes sont désignés par une flèche. A droite : immunohistochimie. Le marquage est localisé dans le cytoplasme des macrophages. Echelle : 20  $\mu$ m (source : [GIBSON-CORLEY, 2008](#)).**

- Mise en culture :

L'isolement et la culture des parasites à partir de tissus présentent l'avantage d'être spécifiques. Mais ils prennent du temps et ne sont pas adaptés à un diagnostic rapide. Cette technique est surtout utilisée dans la recherche, pour la détermination d'espèces ou de souches ([MIRO, 2008](#)).

Ces méthodes divergent sur plusieurs points :

- Leur praticité : facilité, rapidité, reproductibilité (dépistage sur de grands effectifs), temps de mise en œuvre.
- Leur sensibilité et leur spécificité, elles-mêmes dépendantes de la nature de l'échantillon utilisé (sang, liquides biologiques, tissus) et du degré d'infection du chien.

C'est pour cela qu'un arbre diagnostique a été mis au point (**schéma 11**).

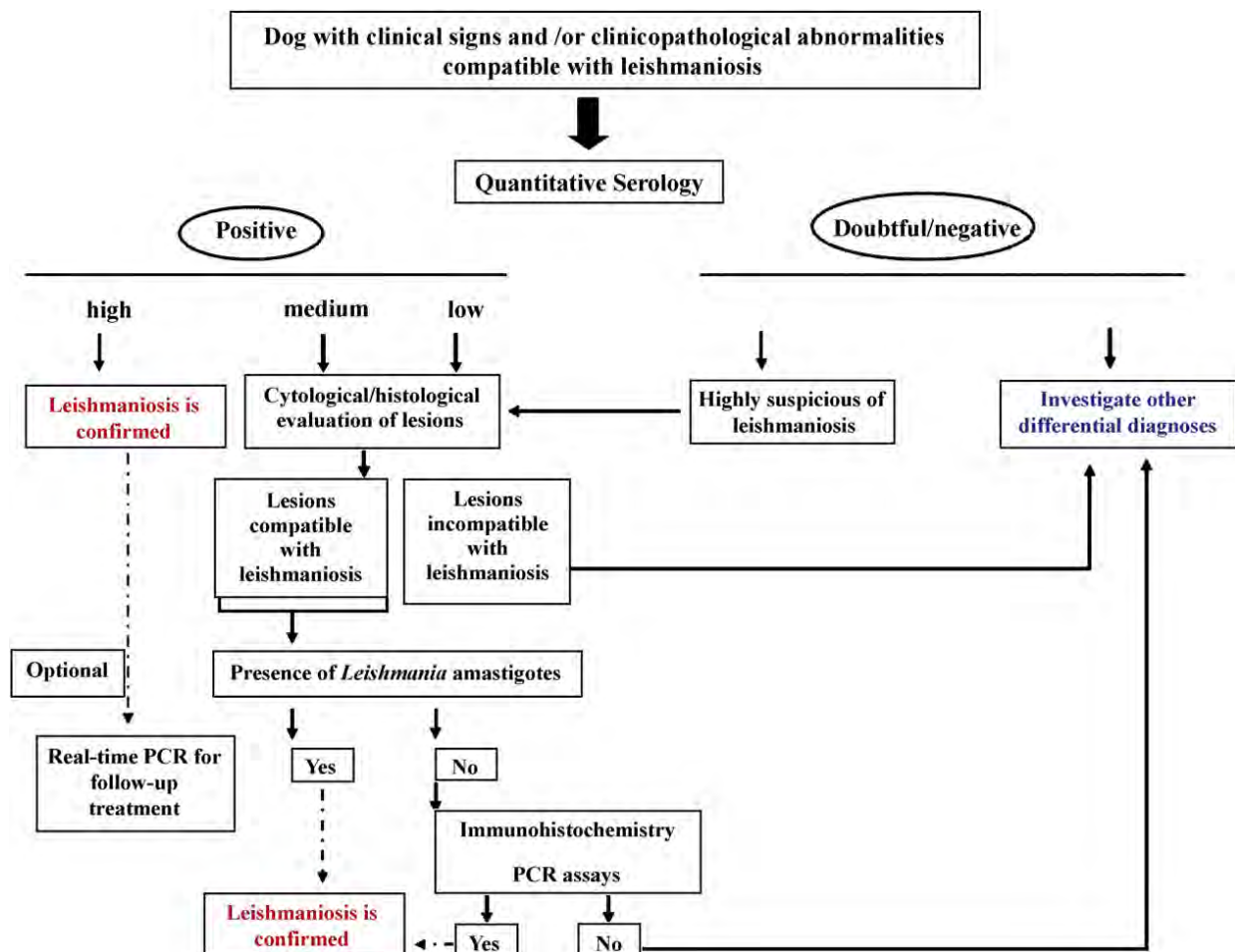


Schéma 11 : Algorithme utilisable pour le diagnostic de leishmaniose sur un chien présentant une clinique ou des anomalies compatibles (source : SOLANO-GALLEGU, 2009).

Dans le cas de **dépistage d'un animal ne présentant pas de signes cliniques**, une sérologie qualitative peut être effectuée en premier lieu (test Speed Leish K™). Si elle est négative, l'animal est sain ou résistant. Si elle est positive, une confirmation par sérologie quantitative (IFI par exemple) est nécessaire :

- Si le résultat de cette dernière se révèle fortement positif (titre IFI supérieur à 4 fois la limite de positivité du laboratoire), une infection active est présente et un suivi régulier (clinique, biochimique, sérologique) doit être mis en place. Un traitement n'est pas forcément recommandé et sera à l'appréciation du vétérinaire en fonction de l'évolution (SOLANO-GALLEGU, 2011).
- Si le résultat est faiblement à modérément positif, la présence du parasite doit être objectivée par d'autres méthodes (PCR, histologie, cytologie), puis une cinétique d'anticorps et un suivi clinique doivent être réalisés tous les 3 mois environ.
- Si le résultat est négatif, l'animal est sain ou résistant. Pour plus de précautions en zone d'endémie, une cinétique d'anticorps et un suivi clinique peuvent être réalisés tous les 6 à 12 mois. En effet, selon son historique, un animal séronégatif et cliniquement sain peut être porteur du parasite (VIRBAC, technical product profile)

#### e. Traitement

La détection d'ADN leishmanien dans le sang ou les tissus d'un chien cliniquement sain, signifie qu'il est infecté. Certaines précautions sont donc à prendre pour éviter qu'il ne transmette la maladie à d'autres chiens (voir ci-dessus). Cependant, lui-même pourrait ne jamais présenter de maladie clinique. Ainsi, la décision de le traiter n'est pas forcément judicieuse (SOLANO-GALLEGO, 2009). Elle est à l'appréciation du clinicien.

La thérapeutique mise en place doit associer traitement spécifique et non spécifique.

#### $\alpha$ . Traitement spécifique

Il vise à détruire les leishmanies. Il faut donc d'une part qu'il puisse les atteindre. Les leishmanies intracellulaires sont protégées par les vacuoles parasitophores dans lesquelles elles sont enfermées. De plus, celles qui sont contenues dans les macrophages du foie et de la rate sont particulièrement résistantes car ces deux organes (en particulier la rate) absorbent peu les principes actifs. Ceci explique pourquoi il est très difficile d'éliminer totalement les parasites. D'autre part, il doit inhiber les métabolismes directeurs de leur survie et de leur multiplication (EUZEBY, 1988).

La possibilité de résistance des leishmanies font que le traitement spécifique est souvent long et les rechutes imprévisibles. Il est important de souligner ces points face au propriétaire, ainsi que le caractère indispensable d'une bonne observance et d'un suivi régulier.

Plusieurs molécules ou familles de molécules sont évoquées dans la littérature. Mais seul un petit nombre d'entre elles ont une efficacité démontrée, et parmi ces dernières, très peu ont une AMM française, ce qui réduit considérablement les possibilités. La polythérapie est la règle en début de traitement. Ce dernier est ensuite adapté au cas par cas.

Nous allons d'abord présenter les molécules actuellement utilisables, puis nous aborderons la conduite du traitement et le suivi.

#### Antimoniote de méglumine :

Il s'agit d'une molécule de la famille des stibiés (dérivés de l'antimoine), aussi appelée antimoniote de N-méthylglucamine. De nom déposé GLUCANTIME®, c'est la seule molécule de ce genre disponible en Europe. En Amérique du Nord, le stibogluconate de sodium est aussi sur le marché (PENTOSTAM®).

L'antimoniote de méglumine est leishmanicide : elle a pour rôle d'inhiber les enzymes de la glycolyse et de l'oxydation des acides gras chez les leishmanies (BANETH, 2001). Son absorption digestive est nulle, ce qui impose une administration par voie parentérale (IM, SC, IV). L'élimination est rapide par voie urinaire (plus de 80% dans les 9 heures suivant l'injection). La posologie est de 100 mg/jour, par voie sous-cutanée de préférence, pendant 3 à 4 semaines au bout desquelles l'animal doit être revu en consultation. Cette molécule est utilisée en association avec l'allopurinol.

Les inconvénients de l'utilisation du GLUCANTIME® sont multiples :

- La voie d'administration : les injections quotidiennes sont contraignantes. Pour l'animal, elles se révèlent également douloureuses, en particulier par voie intramusculaire. Elles peuvent entraîner la formation d'abcès, ou une fibrose musculaire.
- La toxicité : elle est hépatique et rénale. Elle résulte de l'accumulation de la molécule en cas de défaut d'élimination. En cela, elle est potentialisée par les conséquences-même de la maladie. Un chien chez qui la leishmaniose a provoqué une insuffisance rénale ne doit donc pas être traité avec cette molécule, d'où l'intérêt de molécules alternatives.
- Les effets secondaires :

L'animal peut présenter une stibio-intolérance (intolérance au traitement) pendant les 3 premiers jours du traitement. Les signes sont de type anaphylactique (hyperthermie, frissons, arthro-myalgies, éruptions cutanées, troubles hématologiques et digestifs). On donne alors seulement la moitié de la dose pendant ces 3 jours.

La stibio-intoxication survient plutôt en fin de cure, et traduit un surdosage. Il s'agit de signes généraux (hyperthermie, polynévrite, myalgie, arthralgie), cardiaques, et plus rarement d'atteinte hépatocellulaire, d'accidents hématologiques ou rénaux.

Dans certains cas, il y a aggravation des symptômes pendant la première semaine de traitement : c'est la stibio-réviviscence.

- La possibilité de réémergence des signes cliniques et de ré-augmentation du taux d'anticorps plasmatiques, quelques mois après la fin du traitement initial (ROZE, 2005). Il faut alors le reprendre.
- La possibilité de sélectionner des souches de leishmanies résistantes.
- Le prix : il s'agit d'une molécule onéreuse.

### Allopurinol :

Cette molécule (ZYLORIC®) est utilisée en médecine humaine et vétérinaire dans la prévention des calculs d'urate, et dans le traitement de la leishmaniose.

Les leishmanies ne sont pas capables de synthétiser les bases puriques. Elles doivent donc utiliser celles de leur hôte ou des nucléosides (BOURDEAU, 1988). L'allopurinol est un composé « leishmanistatique ». Analogue de base purique, il est métabolisé par les leishmanies pour former du 4-aminopyrazolopyrimidine ribonucleotide triphosphate, un analogue très toxique de l'ATP qui, incorporé dans l'ARN, provoque un arrêt de la synthèse protéique (MIRO, 2009).

La posologie initiale est de 20-30 mg/kg/jour en deux prises, sur une période indéterminée (6-12 mois minimum, un traitement à vie est fréquent). En général, lorsque l'état du chien le nécessite et le permet, le vétérinaire commence le traitement par une association antimoniate de méglumine/allopurinol, puis au bout de quelques mois, si l'évolution est bonne, seul l'allopurinol est poursuivi. Un suivi clinique et biochimique est indispensable pour adapter le traitement.

Les avantages de cette molécule sont sa faible toxicité, son efficacité, sa voie d'administration (orale) et son prix peu élevé. Ceci en fait un traitement de choix au long terme de la leishmaniose canine. De plus, étant donné qu'elle n'est pas utilisée dans le traitement des leishmanioses humaines, l'induction de résistance parasitaire ne pose pas de problème de santé publique.

Peu d'effets secondaires sont connus chez le chien. Un traitement au long cours est cependant susceptible d'entraîner la formation de calculs de xanthine (ROZE, 2005). Pour prévenir cela, la fréquence du traitement peut être adaptée : tous les jours les premiers mois puis une fréquence d'entretien de 1 semaine par mois à vie (cours parasitologie ENVT 2010).

### Miltéfosine :

Cette molécule est un alkylphospholipide développé à l'origine comme un agent anticancéreux chez l'Homme. Puis elle a été enregistrée pour le traitement de la leishmaniose humaine, et récemment celui de la leishmaniose canine dans certains pays européens (MILTEFORAN®, Virbac, Espagne). Elle n'a pas d'AMM en France.

Son rôle est de perturber la synthèse de la membrane cellulaire et les voies de signalisation, entraînant la mort cellulaire. Leishmanicide, elle peut être utilisée en seconde intention, associée à l'allopurinol, en remplacement de l'antimoniate de méglumine (VIAUD, 2012).

Une étude (MIRO, 2009) a comparé in vivo l'efficacité de deux protocoles :

- miltéfosine à la posologie de 2mg/kg/jour par voie orale pendant 28 jours, combinée à l'allopurinol (10 mg/kg/BID par voie orale pendant 7 mois).
- antimoniate de méglumine à la posologie de 50 mg/kg en injection SC BID pendant 28 jours, associée à l'allopurinol (10 mg/kg/BID par voie orale pendant 7 mois).

Le suivi clinique et parasitaire animaux a révélé une efficacité similaire entre les deux protocoles, ainsi qu'une absence d'effets secondaires hépatiques et rénaux.

Les effets secondaires éventuels décrits sont des vomissements et de la diarrhée, réversibles dès l'arrêt du traitement.

Cette molécule ayant des propriétés anti-cancéreuses, tératogènes et abortives, son utilisation n'est pas anodine.

### Amphotéricine B :

Il s'agit d'un antibiotique antifongique de la famille des polyènes, produit par la bactérie *Streptomyces nodosus*. De nom déposé (FUNGIZONE®), elle est utilisée en premier lieu comme antifongique, mais est aussi active contre certains protozoaires comme les leishmanies. Elle se lie aux stérols de la membrane cellulaire, entraînant une perte de perméabilité de cette dernière et une fuite de constituants intracellulaires tels que le potassium (BANETH, 2001).

Sa posologie est de 0,5 à 0,8 mg/kg deux fois par semaine par injection IV rapide pendant deux mois.

Son efficacité dans le traitement de la leishmaniose, serait meilleure que les dérivés stibiés (ROZE, 2005). Cependant, de nombreux inconvénients limitent son utilisation en pratique vétérinaire :

- Elle n'a pas d'AMM leishmaniose.
- Sa voie d'administration : intraveineuse.
- Son coût très élevé.
- La possibilité de sélectionner des souches de leishmanies résistantes.
- Sa néphrotoxicité, par une vasoconstriction rénale qui entraîne une diminution du débit de filtration glomérulaire, ou par action directe sur les cellules épithéliales du rein. Pour éviter ces effets, la molécule est commercialisée sous une forme liposomale (AMBISOME®) ou sous forme d'émulsion lipidique (BANETH, 2001).

Bien que l'amphotéricine B présente une efficacité prouvée dans le traitement de la leishmaniose, son usage n'est pas recommandé en pratique vétérinaire.

En humaine, elle est utilisée en première intention dans le traitement de cette maladie dans un certain nombre de pays. Mais son administration se fait à l'hôpital, avec un suivi régulier de la créatinine plasmatique des patients (ROZE, 2005).

D'autres molécules sont évoquées dans le traitement de la leishmaniose : pentamidine, aminosidine, kétoconazole, métronidazole+spiramycine et marbofloxacin. Mais leur utilisation n'est pas conseillée tant que des études de terrain n'ont pas été réalisées (SOLANO-GALLEGO, 2009).

### Protocoles de traitement :

Le consensus indique de commencer le traitement par une phase d'induction leishmanicide d'1 mois (combinaison d'allopurinol et d'antimoniate de méglumine aux posologies indiquées ci-dessus), poursuivi par une phase de maintien (allopurinol seul) pendant plusieurs mois, voire des années, voire à vie selon les individus.



Dans certains cas (mauvaise observance, douleur à l'injection, effets indésirables, rechutes), l'antimoniote de méglumine peut être remplacé par de la miltéfosine (protocole décrit ci-dessus) mais ceci hors AMM (VIAUD, 2012).

Un grade clinique de la leishmaniose a été établi (SOLANO-GALLEGO, 2009). Il permet d'adapter le traitement au statut clinique et biologique de l'animal, en prenant en compte les effets indésirables des molécules qui pourraient être exacerbés par la pathologie (tableau 5).

Grades cliniques	Titre sérologique	Signes cliniques	Résultats de laboratoire	Traitement	Pronostic
Grade I : maladie légère	Taux d'anticorps négatifs à faiblement positifs (a)	Chiens présentant des signes cliniques discrets comme une lymphadénopathie périphérique ou une dermatite papuleuse	Pas d'anomalies clinicopathologiques observées habituellement ; profil rénal normal, créatinine < 1,4 mg / dl ; absence de protéinurie : UPC < 0,5	Aucun / Allopurinol seul / Allopurinol + antimoniote de méglumine ou miltéfosine	Bon
Grade II : Maladie modérée	Taux d'anticorps faiblement à fortement positifs (b)	Chiens qui, en plus des signes décrits dans le grade I, peuvent présenter des lésions cutanées diffuses ou symétriques comme une dermatite exfoliative, une onychogryphose, des ulcérations (chancrein, coussinets, saillies osseuses, jonctions cutané-muqueuses), une anorexie, une perte de poids, de la fièvre et une épistaxis	Anomalies clinicopathologiques comme une anémie non-régénérative, une hypergammaglobulinémie, une hypoalbuminémie, un syndrome d'hyperviscosité sérique. Sous-grade a : profil rénal normal avec créatinine < 1,4 mg / dl ; absence de protéinurie : UPC < 0,5 Sous-grade b : créatinine < 1,4 mg / dl ; absence de protéinurie : UPC = 0,5 - 1.	Allopurinol + antimoniote de méglumine ou miltéfosine	Bon à réservé
Grade III : maladie grave	Taux d'anticorps modérément à fortement positifs	Chiens qui, en plus des signes décrits dans les grades I et II, peuvent présenter des signes découlant de lésions de la formation de complexes immuns : vasculite, arthrite, uvéite et glomérulonéphrite	Anomalies clinicopathologiques présentes dans le grade II. Maladie rénale chronique (IRC) au grade I IRIS avec UPC > 1 ou grade II (créatinine 1,4-2 mg / dl) (IRIS, 2006a)	Allopurinol + antimoniote de méglumine ou miltéfosine. Suivre les instructions d'IRIS pour l'IRC (IRIS, 2006b)	Réservé à mauvais
Grade IV : Maladie très grave	Taux d'anticorps fortement positifs	Chiens présentant les signes cliniques décrits dans le grade III. Thrombo-embolie pulmonaire ou syndrome néphrotique et stade final de la maladie rénale.	Anomalies clinicopathologiques présentes dans le grade II. IRC stade III IRIS (créatinine 2 - 5 mg / dl) et stade IV (créatinine > 5 mg / dl) (IRIS, 2006a). Syndrome néphrotique : protéinurie marquée UPC > 5	Allopurinol (seul). Suivre les instructions d'IRIS pour l'IRC (IRIS, 2006b)	Mauvais

(a) Le diagnostic de leishmaniose chez les chiens présentant un taux d'anticorps négatif à modérément positif devrait être confirmé avec d'autres méthodes diagnostiques comme la cytologie, l'histologie / immunohistochimie et la PCR.  
(b) Des taux élevés d'anticorps sont diagnostiques d'une leishmaniose canine et sont définis comme une augmentation de trois à quatre fois la valeur de référence établie par le laboratoire.  
IRIS, 2006a. IRIS staging of chronic renal disease (International Renal Interest Society. [http://www.iris-kidney.com/guidelines/en/staging\\_ckd.shtml](http://www.iris-kidney.com/guidelines/en/staging_ckd.shtml)).  
IRIS, 2006b. IRIS treatment recommendation (International Renal Interest Society. [http://www.iris-kidney.com/guidelines/en/treatment\\_recommendations.shtml](http://www.iris-kidney.com/guidelines/en/treatment_recommendations.shtml)).

**Tableau 5 : Gradation clinique de la leishmaniose canine, traitement et pronostic (source : VIAUD, 2012, inspiré de SOLANO-GALLEGO, 2009).**

Le suivi doit être régulier : à la fin du premier mois de traitement, puis tous les 3-4 mois, et tous les 6 mois voire 1 an si la rémission clinique est complète.

Le bilan doit comporter un examen clinique, une numération-formule sanguine, un bilan biochimique (notamment enzymes hépatiques et créatinine), un rapport albumine/globulines, une analyse urinaire, complétée par un RPCU si le chien est protéinurique. Un suivi sérologique est utile. Des études récentes ont montré une diminution lente et progressive du taux d'immunoglobulines IgG et IgA associée à une amélioration clinique. Les IgG ayant une demi-vie assez longue, il est conseillé d'effectuer le suivi sérologique 6 mois après la mise en place du traitement, puis tous les 6 mois à 1 an selon le cas. Un suivi par PCR peut aussi être réalisé.

En cas de rechute clinique (en général associée à une réaugmentation du titre en anticorps), le traitement à base d'antimoniote de méglumine (ou miltéfosine) doit être repris, toujours en association avec l'allopurinol.

En cas de rémission totale clinique et biologique, associée à une sérologie quantitative négative ou très faiblement positive, l'allopurinol peut être arrêté (SOLANO-GALLEGO, 2009).

Dans le cas de la leishmaniose, la définition d'un traitement efficace varie selon les protagonistes. Pour le propriétaire, et en partie le vétérinaire, le traitement est dit efficace lorsqu'il entraîne la régression voire la disparition des signes cliniques et biologiques qui avaient amené le chien à la consultation. Cependant, en zone d'enzootie, l'efficacité ne peut pas se limiter à cela. En effet, un chien « guéri » cliniquement peut encore être porteur de leishmanies, et donc être infectieux pour les vecteurs. Pour la santé publique, les entomologistes et les épidémiologistes, la guérison est synonyme d'absence d'infectiosité. Enfin, pour les parasitologues, l'animal est guéri lorsque tous les parasites ont été éliminés, ce qui est d'une part très dur à réaliser, d'autre part difficile à vérifier (BANETH, 2001). Les traitements actuels de la leishmaniose permettent une rémission clinique, une diminution du taux d'anticorps plasmatiques, mais l'infectiosité peut persister et il est rare que les parasites ne sont pas totalement éliminés.

#### β. Traitement non spécifique

Il s'agit d'un traitement de soutien des fonctions altérées, principalement hépatique et rénale. Des traitements oculaires peuvent être mis en place si nécessaire. L'utilisation de corticostéroïdes à doses immunosuppressives (prednisone ou prednisolone à 1 mg/kg/jour) permet de lutter contre la formation et le dépôt de complexes immuns (ROZE, 2005).

#### γ. L'intérêt de l'immunothérapie

L'immunothérapie désigne l'ensemble des méthodes utilisées pour moduler l'action du système immunitaire, permettant à l'organisme de se défendre.

Les vaccins ont un rôle d'immunoprévention. Cependant, des études ont montré leur potentiel dans le traitement des chiens déjà infectés.

Le vaccin Leishmune® a obtenu l'AMM brésilienne en 2004. Il est composé d'un antigène issu de promastigotes de *L. donovani*, le FML (fucose-mannose ligand), associé à l'adjuvant QS21 (fraction purifiée de saponine issue de l'arbre *Quillaja saponaria*). Une étude (BORJA-CABRERA, 2010) a montré qu'avec une concentration deux fois plus élevée d'adjuvant, ce vaccin pouvait avoir un rôle thérapeutique. Pour cela, des chiens brésiliens infectés ont été répartis en trois groupes : un groupe contrôle non traité, un groupe traité par immunothérapie et un troisième groupe traité par immunochémothérapie (c'est-à-dire avec ce vaccin enrichi associé à de l'allopurinol ou à un traitement à base d'allopurinol et d'amphotéricine B). Les résultats ont montré que l'immunothérapie et l'immunochémothérapie favorisent la réponse immunitaire à médiation cellulaire, la rémission des signes cliniques, la réduction de la charge parasitaire (mesurée dans les nœuds lymphatiques) et la baisse du taux de létalité. L'immunochémothérapie semble être la plus efficace à court et long terme : 80% de PCR négatives sur chiens traités en 8 mois (contre 33% de chiens traités par immunothérapie) et taux de létalité considérablement réduit à 4,5 ans.

Une autre publication (BOURDOISEAU, 2004) a testé l'efficacité des antigènes d'excrétion-sécrétion (ESP) de promastigotes de *Leishmania infantum* cultivés en milieu défini (ces mêmes antigènes composent le vaccin Canileish®, commercialisé en France depuis septembre 2011). Pour cela, trois chiens infectés ont été sélectionnés : le premier n'avait encore jamais été traité, les deux autres avaient rechuté suite à un traitement classique à base d'allopurinol et d'antimoniote de méglumine. 25 microgrammes de ces ESP, associés à un adjuvant, ont été injectés à chaque chien par voie intradermique, deux fois à trois semaines d'intervalle. Les résultats ont montré une amélioration clinique quinze jours après le début du traitement, une activité leishmanicide des monocytes prélevés, une diminution significative des titres en anticorps et une absence de rechute deux ans après le début du traitement. La limite principale de cette étude est la taille de l'effectif testé. D'autres investigations sont nécessaires pour

connaître plus précisément la durée de l'efficacité d'un tel traitement, ainsi que la fréquence des injections éventuelles à renouveler.

#### *f. Facteurs prédisposants : le rôle de la génétique*

Dans le cas des leishmanioses, tout individu infecté ne développe pas une maladie clinique. Certains facteurs prédisposent à la résistance ou la sensibilité. Ainsi, l'on sait qu'un défaut d'immunité (co-infections, conditions immunosuppressives) peut faire basculer l'équilibre fragile entre infection et maladie. L'âge, le sexe, la nutrition, la charge parasitaire, la virulence des souches de leishmanies, les infections antérieures et le mode de transmission sont aussi évoqués (SOLANO-GALLEGO, 2009).

De plus, des prédispositions génétiques sembleraient jouer un rôle. Ainsi, certaines races comme les Boxers, les Cocker Spaniel, les Rottweiller et les Bergers Allemands, semblent être prédisposées au développement de la maladie, alors que d'autres telles que l'Ibizan des Baléares, sont beaucoup plus résistantes. Deux gènes ont été identifiés et leur implication a été étudiée.

Le gène *Slc11c1* (Solute carrier family 11 member a1), autrefois nommé N-RAMP1 (Natural Resistance-Associated Macrophage Protein 1) intervient dans la régulation de la fonction macrophagique. Il est ainsi impliqué dans le contrôle de la réplication intraphagosomale des parasites, dans l'activation des macrophages, dans la régulation de l'expression de gènes codant pour la synthèse de cytokines, de chémokines, de l'IL-1 $\beta$ , du TNF $\alpha$ , de molécules du CMH II, dans l'induction de la nitric oxyd synthase (iNOS) et le flux de L-arginine. Certaines mutations de ce gène pourraient être associées à une augmentation de sensibilité pour la leishmaniose (BLACKWELL, 2001).

De même, certains génotypes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II (CMH II, voir partie I.1.d) pourraient intervenir (SANCHEZ-ROBERT, 2005). Chez la souris, il a été montré que les gènes du CMH contrôlaient la sensibilité pour *L. infantum* et *L. donovani*. Chez l'Homme, certaines études ont également mis en évidence un lien entre les allèles du CMH II et la sensibilité à la leishmaniose cutanée. Une étude (QUINNELL, 2003) a été réalisée sur des chiens brésiliens soumis à une infection naturelle par *Leishmania infantum*. Les résultats ont révélé un lien significatif entre la présence de l'allèle DLA-DRB1\*01502 et la sensibilité des chiens à la leishmaniose viscérale. En effet, les chiens possédant l'allèle DLA-DRB1\*01502 présentaient un taux d'IgG spécifiques anti-*Leishmania* et un risque d'être positifs par PCR supérieurs à ceux qui ne le possédaient pas. En revanche, aucun lien n'a été mis en évidence entre cet allèle et l'intensité des signes cliniques, ce qui suggère qu'il a un rôle dans la charge parasitaire mais pas dans l'expression clinique. Pour aller plus loin, cette étude a également mis en évidence une corrélation entre le lieu d'origine des chiens et l'infection. En effet, les chiens nés hors zone d'enzootie présentaient un taux d'IgG spécifiques anti-*Leishmania* et un risque d'être positifs par PCR supérieurs à ceux qui étaient nés en zone d'enzootie. Les auteurs ont suggéré que ces derniers étaient nés de mères ayant survécu à la leishmaniose viscérale, ayant donc pu développer une résistance phénotypique ou génotypique à cette maladie, qu'elles auraient transmis à leur progéniture.

#### *g. Autres espèces à risque*

Le chien est considéré comme réservoir majeur et prouvé de *Leishmania infantum*. Cependant, le parasite a également été isolé des canidés sauvages (renard, loup, chacal), ainsi que chez le cheval, le chat, les bovins, la chèvre, le mouton, et plusieurs espèces de rongeurs comme le rat et l'écureuil.

En particulier, la leishmaniose féline a fait l'objet d'un certain nombre de publications. La première date de 1912. Des cas ont par la suite été décrits en Amérique latine, dans le bassin méditerranéen et en Asie. Du point de vue clinique, elle se traduit par des formes cutanées ou viscérales. Les premières (les plus fréquentes) se caractérisent par des ulcères, nodules, voire papules, intéressant majoritairement la tête (face, pavillons auriculaires, proximité de la truffe, paupières et lèvres), et accessoirement le reste du corps. Les signes généraux, moins fréquents, consistent en une poly-adénomégalie, de la cachexie, un amaigrissement, de l'abattement et de l'anorexie. Le mode de transmission serait uniquement vectoriel chez cette espèce. Une des particularités de la réaction du chat est que la séropositivité semble être transitoire, contrairement au chien. Ceci mène à penser que le chat développe une immunité à médiation cellulaire prépondérante et bénéfique. Des infections concomitantes *Leishmania-FIV/FeLV* ont été mises en évidence. Toutefois, le caractère dysimmunitaire de ces virus ne constituerait pas un facteur favorisant l'expression de la leishmaniose-maladie. Le traitement de cette maladie chez le chat est basé sur celui utilisé chez le chien, mais les résultats sont décevants. De plus, l'évolution naturelle de l'infection et la gravité de la maladie chez le chat n'incitent pas à une thérapeutique obligatoire. La prophylaxie reste cependant conseillée en zone d'enzootie canine, même si les insecticides efficaces, les pyréthrinoïdes, ne sont pas utilisables chez cette espèce (BOURDOISEAU, 2011). Les questions qui se posent par rapport au chat, au vu de sa proximité avec l'Homme et le chien, concernent son rôle dans le cycle épidémiologique de la leishmaniose. Constitue-t-il un cul-de-sac épidémiologique ou au contraire un réservoir potentiel ? Pour tenter de répondre à cette question, un chat infecté chroniquement par *Leishmania infantum* a été soumis à un xénodiagnostic (MAROLI, 2007). L'animal a été sédaté puis soumis à la morsure de cent phlébotomes femelles de l'espèce *Phlebotomus perniciosus* (vecteur prouvé de *L. infantum*), âgées de 4 à 6 jours. Au bout de 90 minutes, les phlébotomes ont été anesthésiées puis observées au microscope. 20 d'entre elles s'étaient gorgées. Elles ont donc été nourries au sucrose pendant 6 à 7 jours puis disséquées. Sur 19 femelles disséquées, 4 possédaient des promastigotes motiles de *Leishmania infantum* au niveau de leur intestin antérieur. L'analyse des leishmanies trouvées dans les femelles phlébotomes et dans les nœuds lymphatiques du chat a révélé qu'elles appartenaient toutes au zymodème MON-1 (commun dans le bassin méditerranéen). Cette expérience a montré que le chat pouvait être infectieux pour des vecteurs compétents. Mais le caractère de réservoir reste encore controversé.

Le cheval, également proche de l'Homme, peut aussi être contaminé par *L. infantum*. Des cas ont été décrits en zone d'enzootie, mais aussi hors zones d'enzootie. La maladie clinique se caractérise par des lésions cutanées nodulaires ou ulcératives, isolées ou diffuses, qui disparaissent sans aucun traitement. Des expériences de xénodiagnostic sur des ânes brésiliens infectés par *L. infantum*, utilisant le vecteur local *Lu. longipalpis*, se sont révélées négatives. Le cheval ne constituerait donc pas un réservoir, mais plutôt un hôte accidentel à la réponse immunitaire efficace (GRAMICCIA, 2005).

## 2. Répartition géographique

### a. Au niveau mondial

La leishmaniose canine à *L. infantum* (*L. chagasi*) est endémique sur 4 continents : l'Europe, l'Asie, l'Afrique et l'Amérique. On pense que le parasite aurait été importé en Amérique du sud et centrale par les colons européens au cours de la colonisation il y a 500 ans (TUON, 2008).

D'autres espèces de leishmanies, responsables de leishmanioses cutanée, cutanéomuqueuse ou viscérale chez l'Homme, ont été trouvées infestant des chiens, sans pour autant que ces derniers ne constituent des réservoirs à risque (tableau 6).

<i>Leishmania</i> species	Geographical distribution	Proven sand fly vectors	Suspected sand fly vectors
<i>L. infantum</i>	Mediterranean basin Middle East	<i>Phlebotomus perniciosus</i> , <i>P. ariasi</i> , <i>P. perfiliewi</i> , <i>P. neglectus</i> , <i>P. langeroni</i> , <i>P. tobbi</i> <i>P. kandelakii</i>	<i>P. longicuspis</i> , <i>P. syriacus</i> , etc.
	Southern Asia, Iran, Armenia, Afghanistan		<i>P. brevis</i> , <i>P. halepensis</i> , etc.
	Central Asia, China	<i>P. chinensis</i> , <i>P. alexandri</i>	<i>P. smirnovi</i> , <i>P. transcaucasicus</i> , <i>P. Longiductus</i>
<i>L. infantum</i> = <i>L. chagasi</i>	Central and South America	<i>Lutzomyia longipalpis</i> , <i>Lu. evansi</i> , <i>Lu. olmeca olmeca</i>	<i>Lu. antunesi</i> , <i>Lu. shannoni</i>
<i>L. donovani</i>	East Africa	<i>P. orientalis</i> , <i>P. martini</i>	<i>P. rodhaini</i>
<i>L. tropica</i>	North Africa	<i>P. sergenti</i> , <i>P. arabicus</i>	<i>P. chabaudi</i> , <i>P. saevus</i>
<i>L. braziliensis</i>	Central to South America	<i>Lu. wellcomei</i> , <i>Lu. spinicrassa</i> , <i>Lu. whitmani</i> , <i>Lu. yucumensis</i> , <i>Lu. carrerai carrerai</i> , <i>Lu. llanosmartinsi</i> , <i>Lu. ovallesi</i> , <i>Lu. intermedia</i> , <i>Lu. gomezi</i> , <i>Lu. trapidoi</i> , <i>Lu. ylephiletor</i> , <i>Lu. umbratilis</i>	<i>Lu. amazonensis</i> , <i>Lu. migonei</i> , <i>Lu. panamensis</i> , <i>Lu. paraensis</i> , <i>Lu. complexus</i> , <i>Lu. pessoai</i> , etc.
<i>L. peruviana</i>	Peruvian Andes	<i>Lu. peruensis</i> , <i>Lu. verrucanum</i> , <i>Lu. ayacuchensis</i>	<i>Lu. noguchii</i> , <i>Lu. pescei</i>
<i>L. panamensis</i>	Central America	<i>Lu. trapidoi</i> , <i>Lu. ylephiletor</i> , <i>Lu. gomezi</i> , <i>Lu. panamensis</i> , <i>Lu. hartmanni</i>	<i>Lu. shannoni</i> , <i>Lu. ovallesi</i> , etc.

**Tableau 6 : Distribution géographique des différentes espèces de leishmanies infestant le chien, et leurs vecteurs (source : SOLANO-GALLEGO, 2009)**

### *b. Le cas de l'Europe*

#### *α. Données actuelles*

Selon la carte établie par Patrick Bourdeau en 2010 (**carte 7**), plusieurs zones sont décrites :

- Les zones d'enzootie, c'est-à-dire où la maladie, cliniquement exprimée ou non, sévit régulièrement chez l'animal (déf : cours épidémiologie ENVV 2009). Elles concernent tout le pourtour méditerranéen ainsi que le Portugal, et s'étendent progressivement vers le Nord.
- Les foyers « autochtones », situés en dehors des zones d'enzootie, et pour lesquels les cas décrits ne présentent pas d'historique de voyage ou d'importation en provenance des zones d'enzootie.
- Les cas importés, en provenance des zones d'enzootie.

## RÉPARTITION DE LA LEISHMANIOSE CANINE EN EUROPE EN 2010

Pr. P. Bourdeau  
Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes

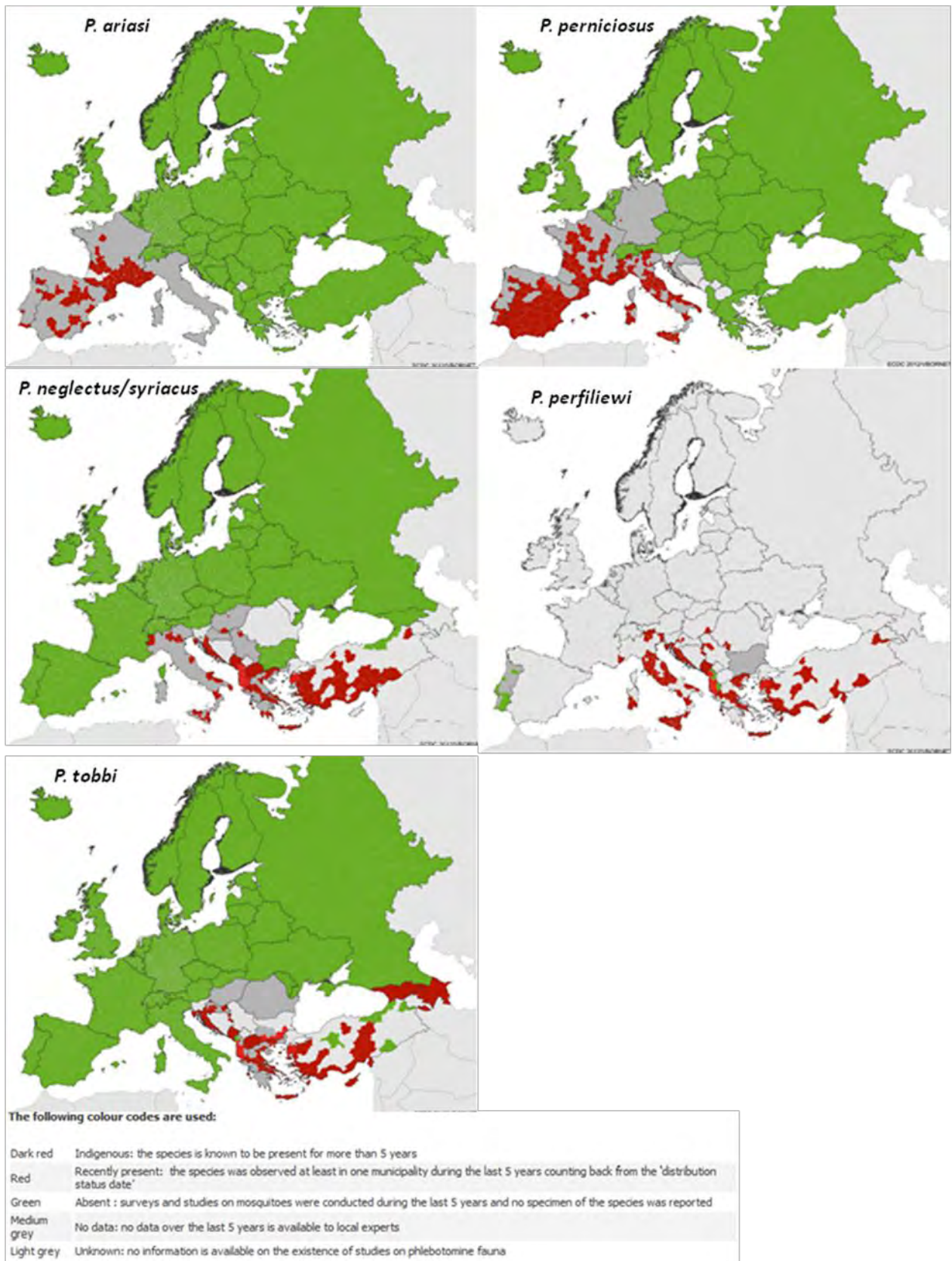
- Forte enzootie
- Enzootie
- Zones d'extension de l'enzootie
- Extension potentielle par présence du vecteur (*P. perniciosus*) (France)
- Pays/zones ou des cas autochtones/foyers ont été décrits (hors enzootie)
- Cas importés



\* Les limites des zones ne sont pas données avec précision  
\* Carte réalisée à partir des travaux enquêtes européennes et conférences :  
Bourdeau: EMOP2004 ; WorldLeish4 2009; ECVD 2009 ; RESFIZ 2009)

Carte 7 : La leishmaniose canine en Europe (source : documentation VIRBAC)

En Europe, 6 espèces de phlébotomes sont vecteurs prouvés de *L. infantum* : *P. perniciosus*, *P. ariasi*, *P. perfiliewi*, *P. neglectus*, *P. longeroni*, *P. tobbi*. 5 d'entre elles ont été cartographiées par l'European Center for Disease Prevention and Control en 2012 (carte 8). Trois autres espèces, *P. longicuspis*, *P. kandelakii* et *P. syriacus* sont considérés comme vecteurs potentiels. On peut noter que ces vecteurs sont localisés autour de la méditerranée.



Carte 8: Répartition des espèces de phlébotomes vectrices de *L. infantum* dans le bassin méditerranéen, en septembre 2012 (source : [www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu))

β. Extension et facteurs favorisants

Dans les zones d'enzootie, c'est-à-dire autour de la méditerranée, la leishmaniose canine reste très active, s'intensifie et a tendance à s'étendre vers le nord (ex : France, Italie, Portugal). Dans les autres pays européens, l'inquiétude grandit face à l'apparition de foyers autochtones et à l'augmentation des cas importés.

L'épidémiologie et la transmission de la leishmaniose canine varie selon que l'on se trouve en zone d'enzootie ou en dehors.

En zone d'enzootie, la transmission se fait par les espèces de phlébotomes vectrices. Certaines conditions (climatiques par exemple) peuvent entraîner leur multiplication et leur migration, entraînant l'extension du phénomène. D'autres espèces peuvent également se révéler vectrices. Le réservoir est constitué par les canidés domestiques, dont l'intégration dans la société actuelle et la proximité avec l'Homme favorisent l'implantation et le maintien de l'enzootie.

En dehors des zones d'enzootie, de plus en plus de cas sont décrits. Il s'agit d'une part de cas importés en provenance des pays du bassin méditerranéen (SLAPPENDEL, 1999) :

- voyages (de plus en plus de propriétaires partent en vacances avec leurs animaux depuis l'allègement des conditions de transport).
- adoptions (beaucoup moins fréquentes en nombre, mais les animaux ont en général séjourné beaucoup plus longtemps dans les pays à risque que pour de simples vacances, et donc la probabilité de contracter la maladie est plus forte).

D'autre part, on décrit des foyers autochtones, dont l'origine reste souvent à déterminer.

Dans les deux cas, la crainte porte alors sur l'extension de la maladie aux congénères, voire à l'Homme, via des modes de transmission non vectoriels lorsqu'aucun vecteur prouvé n'est connu, ou via la mise en contact avec des espèces de phlébotomes autochtones qui se révèlent de potentiels nouveaux vecteurs.

Des études menées dans différents pays d'Europe s'intéressent à l'évolution des cas de leishmanioses humaines et animales. Nous allons en développer quelques-unes.

### Le cas de l'Italie

Selon une étude (MAROLI, 2008), l'incidence des leishmanioses viscérales humaine et canine en Italie a augmenté depuis les années 1990, avec une expansion vers le nord.

Jusqu'aux années 80, la zone d'endémie était restreinte à la partie insulaire et péninsulaire du pays. Le vecteur principal était *P. perniciosus*. La séroprévalence pouvait atteindre 40% chez les chiens, et la maladie atteignait l'Homme sporadiquement, avec une quarantaine de cas de LV déclarés par an. Mais depuis le début des années 90, l'incidence de LV humaine a fortement augmenté, avec plus de 200 cas rapportés dans l'ensemble du pays en 2000. De plus, de nouveaux foyers ont été localisés, dans la zone d'endémie mais aussi au nord, dans la partie continentale du pays.

De 1990 à 2005, 230 cas de LV humaine ont été rapportés dans les régions du nord de l'Italie, ce qui représente 10,9% des cas totaux rapportés dans le pays durant cette même période. L'incidence, allant de 2 à 20 cas par an avec une moyenne de 14 cas par an, semble être stable. Ce sont les catégories de populations touchées qui ont évolué, avec une forte diminution des co-infections HIV/leishmanioses, mais en revanche une augmentation de l'incidence chez les jeunes enfants et les adultes séronégatifs pour le HIV.

Concernant la leishmaniose canine, sept nouveaux foyers ont été identifiés dans 4 régions du nord de l'Italie entre 1990 et 2002, avec une séroprévalence allant de 0,7% à 9,7% selon les foyers. Entre 2003 et 2005, ce sont 13 nouveaux foyers qui ont été détectés dans cette même zone du nord de l'Italie. Parmi les 5442 chiens asymptomatiques examinés, 3,4% étaient séropositifs pour la leishmaniose (IFAT), dont 1,5% ayant voyagé en zones d'endémies avec leur propriétaire ou ayant été achetés/adoptés dans ces mêmes zones.



Dans cette étude, les auteurs associent cette expansion géographique des cas italiens vers le nord, aux variations climatiques en cours, et plus précisément au réchauffement climatique. Ils soulignent le fait que la distribution et la densité des phlébotomes est étroitement dépendante de la température et de l'humidité relative. Une augmentation des températures entraîne un allongement de la période d'activité des adultes, raccourcit la durée de développement des larves pour les espèces présentes, et offre la possibilité à de nouvelles espèces potentiellement vectrices de s'installer et proliférer. Les deux principaux vecteurs en cause ici sont *P. perniciosus*, déjà présent avant les années 90 mais dont la densité de population augmente, et *P. neglectus*, dont la présence n'avait jamais été reconfirmée dans le nord de l'Italie depuis sa première identification en 1917, mais qui a été recapturé dans plusieurs régions depuis 1995.

D'autres facteurs entrent également en jeu pour expliquer les nouveaux foyers mis en évidence, le principal étant l'accroissement de la mobilité des chiens en provenance de, et vers les zones d'endémie.

La conclusion de cette étude est qu'il faut désormais sensibiliser les voyageurs en direction des zones vallonnées et montagneuses de basse altitude en Italie du Nord, en leur recommandant de se protéger et de protéger leurs animaux durant les vacances d'été.

### Le cas du Royaume-Uni

Le Pet Travel Scheme (PETS) est un système mis en application le 28 février 2000 au Royaume-Uni. Appelé en France PVAC (Programme de Voyage des Animaux de Compagnie), il permet aux chiens, chats et furets voyageant dans certains pays d'Europe (spécifiés dans une liste), et récemment aux USA et au Canada, ou provenant de ces pays-là, de rentrer au Royaume-Uni sans les 6 mois de quarantaine autrefois imposés. Il faut pour cela qu'ils respectent des conditions bien précises.

Les données du DEFRA (Department for Environment, Food and Rural Affairs) indiquent une augmentation du nombre d'animaux de compagnie entrés au Royaume-Uni grâce au PETS : de 14695 pour l'année 2000, il est passé à 82674 pour l'année 2006 (MENN, 2010).

Un rapport (SHAW, 2003) dresse une liste des chiens et chats entrés en UK entre avril 2001 et juillet 2002, cliniquement malades et chez qui une maladie « exotique » a été confirmée par PCR. Parmi les 70 animaux concernés, 55 avaient voyagé par le système PETS et 15 avaient subi la quarantaine.

Le **tableau 7** décrit les résultats obtenus concernant la leishmaniose.

Modalité de déplacement	PETS	Quarantaine
Nombre d'animaux testés (PCR)	44	14
Nombre de positifs	5	1
Provenance	- Espagne : 4 - France : 1 (co-infection avec <i>Babesia canis canis</i> )	- Afrique du Sud : 1 (co-infection avec <i>Babesia gibsoni</i> )

**Tableau 7 : Chiens atteints de leishmaniose entrés au Royaume-Uni entre avril 2001 et juillet 2002 (source : SHAW, 2003)**

### c. La leishmaniose canine en France

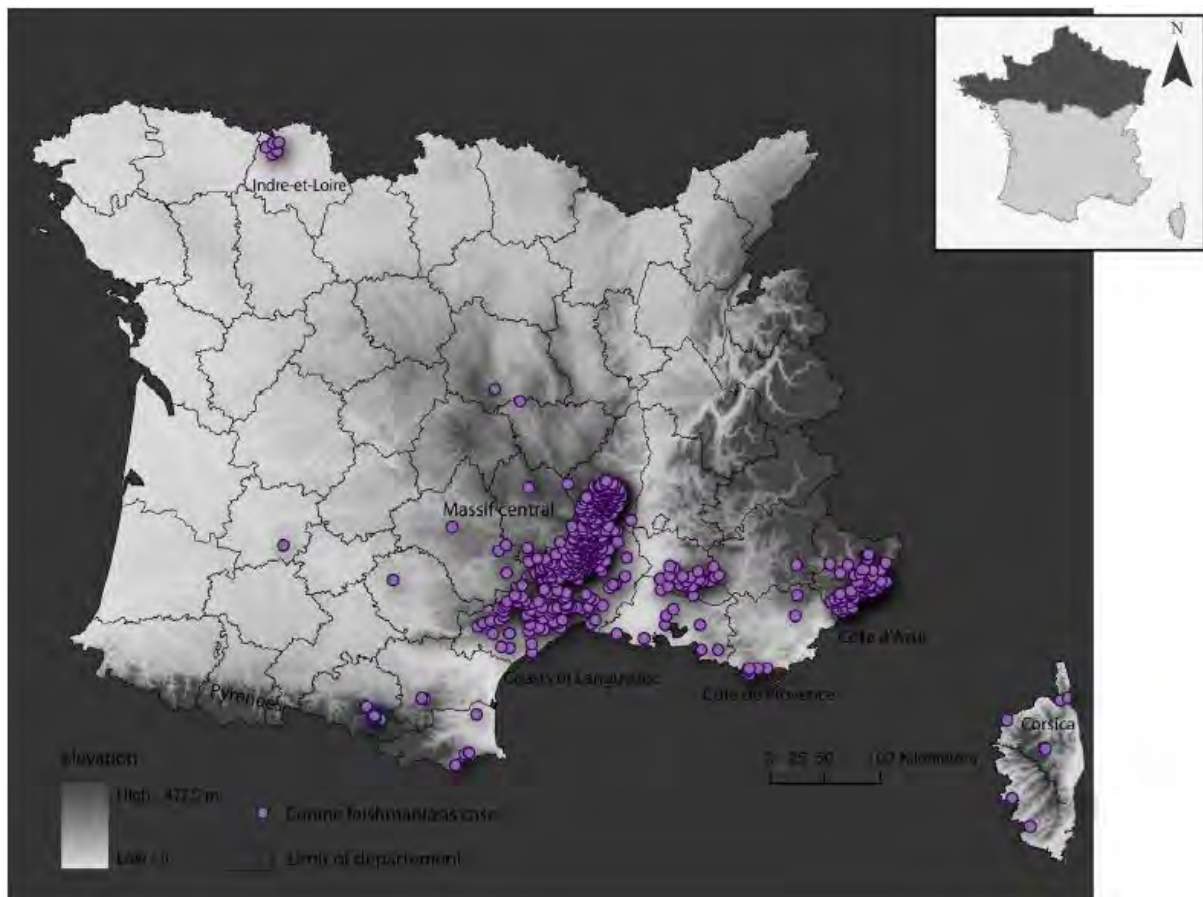
En France, la leishmaniose canine est à la base une entité méditerranéenne, localisée dans le sud-est du pays, et liée à la présence de deux vecteurs : *P. perniciosus* et *P. ariasi*. Cependant, tout comme dans d'autres pays comme l'Italie, cette zoonose est en expansion. Plusieurs facteurs, déjà largement décrits, en sont à l'origine : variations environnementales et climatiques (qui influencent la dissémination des vecteurs), mais aussi socio-économiques (augmentation du nombre de chiens voyageant en zone d'enzootie ou provenant d'une telle zone). L'impact de la transmission non vectorielle n'est pas à négliger. Deux études en particulier se sont attachées à recenser les cas de leishmaniose canine en France et à évaluer son extension. Leur complémentarité vient du fait qu'elles n'utilisent pas les mêmes bases de données ni les mêmes critères de raisonnement.

La première, datée de 2010 ([CHAMAILLE, 2010](#)), s'appuie sur le lien existant entre les facteurs environnementaux et la dispersion des vecteurs de leishmaniose canine sur le territoire français, afin d'établir une carte des zones à risque de transmission.

En France, deux vecteurs prouvés sont responsables de transmission de leishmaniose canine : *P. ariasi* et *P. perniciosus*. Leur distribution dépend de paramètres environnementaux tels que la végétation (notamment la présence et la nature des forêts), la pluviométrie, les températures et l'altitude. Ainsi, *P. perniciosus* est surtout présent sur le littoral méditerranéen, à des altitudes inférieures à 600 m au dessus du niveau de la mer, où les températures moyennes sont élevées, la pluviométrie généralement faible et la couverture forestière peu dense. *P. ariasi* préfère les forêts de chênes entre 200 et 1400 m d'altitude, où les températures sont plus basses et la pluviométrie plus forte.

Les auteurs de l'étude se sont dans un premier temps attachés à répertorier tous les cas de leishmaniose canine en France (hors cas importés), publiés dans la littérature entre 1965 et 2007. En localisant ces cas sur une carte, ils ont mis en évidence deux gros foyers (**carte 9**) :

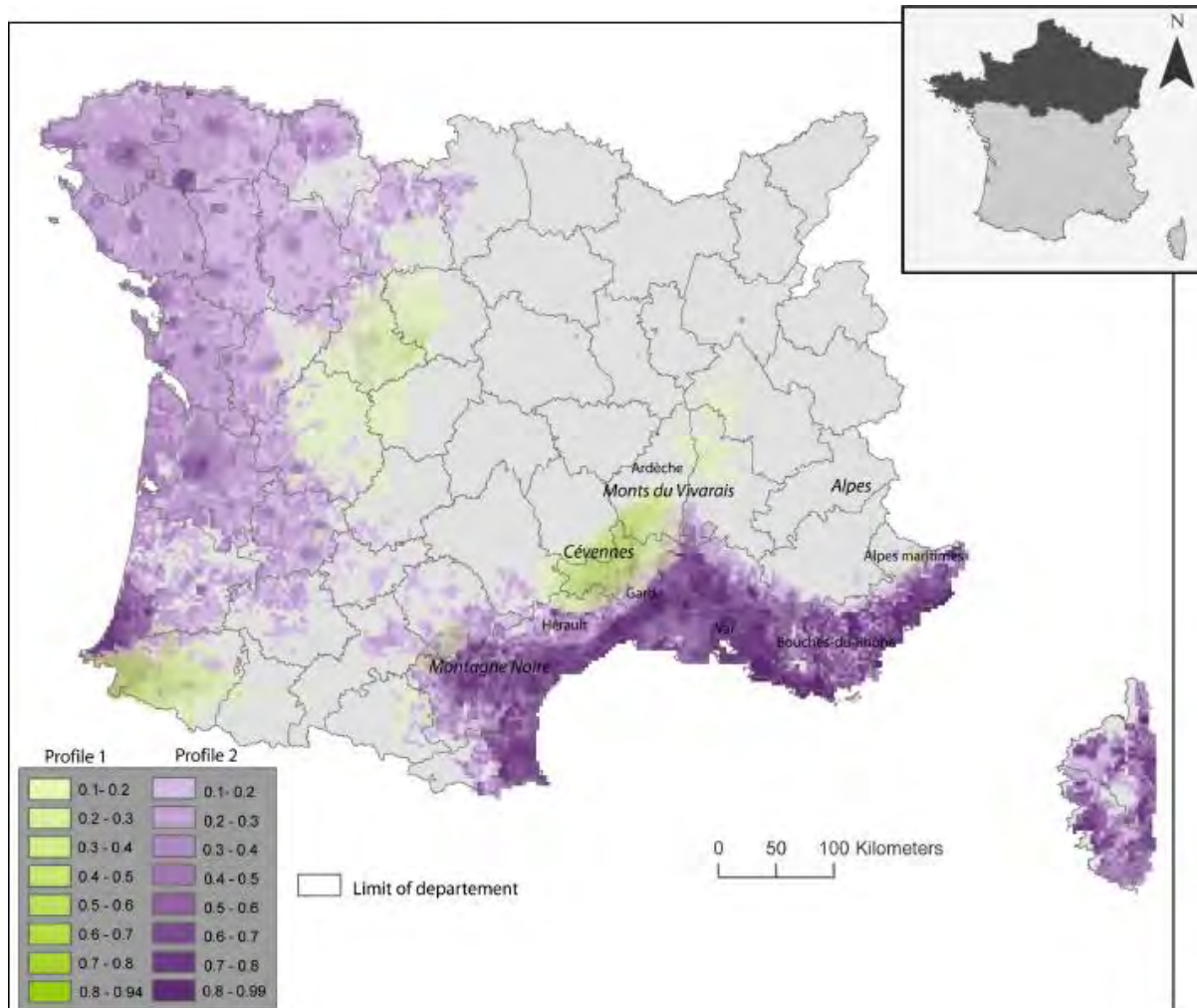
- Le premier dans la région des Cévennes, au sud du Massif Central, entre 200 et 1000, caractérisé par des températures hivernales basses, une pluviométrie élevée et une importante couverture forestière.
- Le second sur les plaines côtières de Méditerranée, où les températures sont supérieures, la pluviométrie plus basse et la forêt moins présente (Alpes-Maritimes, Var, Vaucluse, Hérault surtout).



**Carte 9 : Localisation des foyers de leishmaniose canine français recensés dans la littérature, de 1965 à 2007 (source : [CHAMAILLE, 2010](#)).**

A chacun de ces foyers correspondent des caractéristiques environnementales favorables à l'une ou l'autre des espèces vectrices pré-citées.

En se basant donc sur le fait que des variations environnementales influencent la répartition des vecteurs et le risque de transmission de leishmaniose canine, les auteurs ont établi une carte des zones les plus à risque dans le sud de la France (**carte 10**), qui doivent faire l'objet d'une surveillance vétérinaire et entomologique. Ils précisent que ce n'est qu'un modèle, qui ne prend pas en compte la possibilité de cas importé ou de transmission non vectorielle.



**Carte 10 : Estimation des zones à risque de transmission de leishmaniose canine par les vecteurs *P. perniciosus* (en violet) et *P. ariasi* (en vert) dans le sud de la France. Le risque est exprimé avec une probabilité allant de 0 à 1 (source : CHAMAILLE, 2010).**

En cela, la seconde étude complète la première. Il s'agit cette fois d'un travail réalisé en trois temps par le professeur Patrick BOURDEAU et son équipe. Il consiste en un questionnaire envoyé à un grand nombre de cliniques vétérinaires sur le territoire français, qui ont alors joué le rôle de sentinelle et ainsi renseigné sur les réalités de terrain.

Trois questionnaires similaires ont ainsi été envoyés, en 1988, 2004 et 2011. Une des questions porte sur le nombre de cas annuels de cas de leishmaniose canine observés par clinique. Les réponses à cette question ont permis de réaliser deux types de cartes :

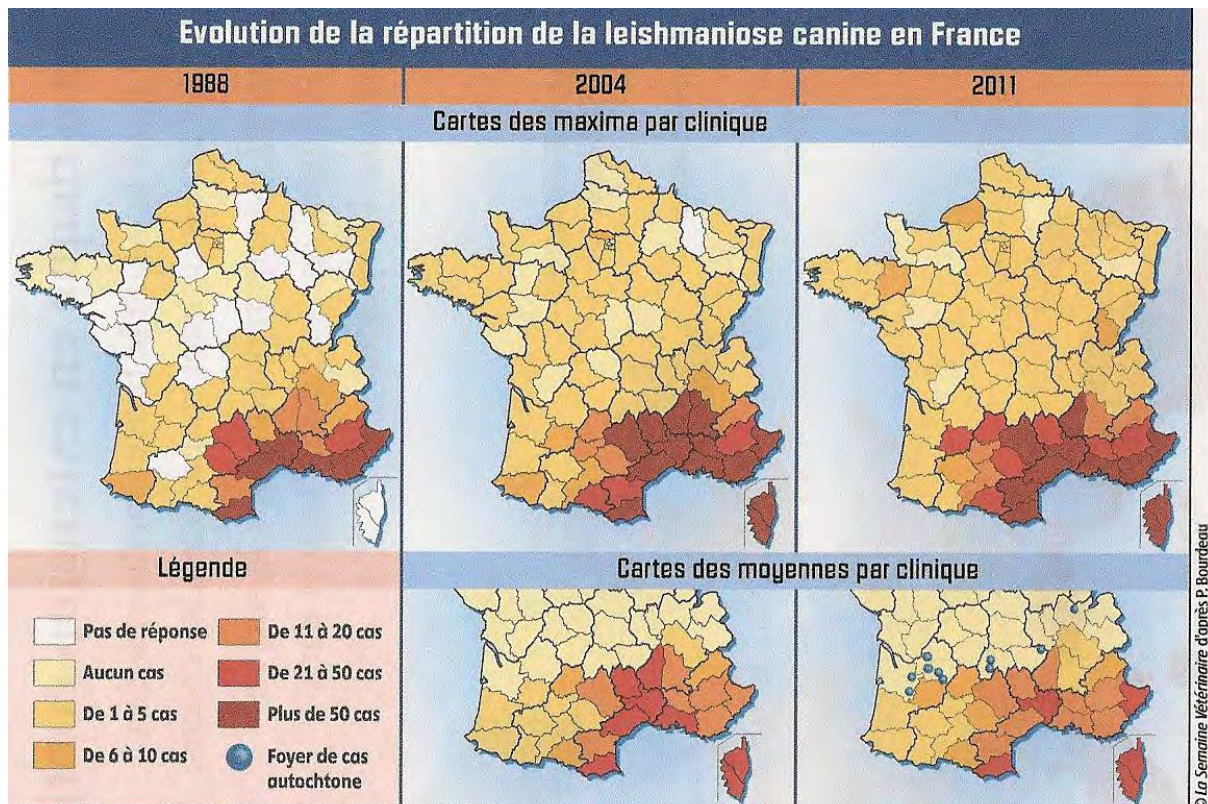
Des cartes de maxima par clinique, où la couleur attribuée à chaque département est fonction du nombre maximal de cas de leishmaniose canine observés dans au moins une des cliniques dudit département.

Des cartes de moyennes de cas par clinique.

L'intérêt est de comparer les cartes pour les trois périodes analysées (1988, 2004, 2011) et d'en déduire des tendances (**carte 11**). En 1988, le nombre de départements dans lesquels le maxima est supérieur à 50 cas par an s'élève à 8. En 2004, ce nombre est passé à 13 (développement des outils diagnostiques ?). On note une extension de la zone d'enzootie vers le sud-ouest et une intensification vers le nord, au-delà des zones sensées héberger les vecteurs. En 2011, plusieurs phénomènes sont observables :

- Une incidence qui semble diminuer dans le foyer enzootique primaire (sur la base des cartes de moyennes), sauf en Corse, dans les Alpes Maritimes, le Gard et les Pyrénées Orientales.

- Un front qui progresse toujours vers le sud-ouest en direction des Pyrénées atlantiques.
- La mise en évidence de cas autochtones en bordure de la zone d'enzootie voire plus loin (cas recensés dans 31 départements au total).



Carte 11 : Evolution de la répartition de la leishmaniose canine en France à partir des résultats de trois enquêtes nationales (source : CHAMARD, 2011, d'après P. BOURDEAU).

La leishmaniose canine trouve donc une implantation grandissante en France, au départ du littoral est-méditerranéen et en direction des départements du nord-ouest et du sud-ouest. Les facteurs conditionnant cette évolution sont parfois difficiles à évaluer. Cependant, les cartes de P. Bourdeau montrent une stabilisation voire une diminution des moyennes de cas par clinique dans la zone primaire d'enzootie. On peut se demander si cette tendance est liée à l'efficacité des moyens de maîtrise mis en œuvre.

### 3. Moyens de maîtrise

#### a. Généralités

Il existe trois voies pour maîtriser la dissémination de la leishmaniose canine : éliminer les vecteurs, limiter le réservoir et lutter contre les piqûres de phlébotomes.

#### b. Contrôle des réservoirs

De manière générale, la connaissance des espèces réservoirs, de leur habitat et de leur mode de vie est d'une aide précieuse car elle permet d'élaborer des plans d'action visant à les éliminer (mise en place de pièges, destruction des habitats et des sources de nourriture, contribution au maintien des espèces prédatrices...).

Dans le cas de la leishmaniose canine, le réservoir domestique est le chien mais des espèces sauvages (telles que le renard en Europe) constituent des réservoirs sauvages.

Le contrôle des réservoirs canins passe tout d'abord par l'identification précoce des chiens infectés. Les méthodes de diagnostic, de dépistage et de suivi décrites ci-dessus (II.1.d) y contribuent, mais ne sont pas forcément disponibles partout, ce qui induit des sous-estimations des cas réellement présents.

On sait qu'il y a une corrélation positive entre la charge parasitaire (déterminée par PCR), l'intensité des signes cliniques et le caractère infectieux d'un individu. En diminuant la charge parasitaire, le traitement des chiens infectés symptomatiques ou asymptomatiques fortement séropositifs réduit également le risque de transmission des parasites du chien au phlébotome, et donc à d'autres chiens ou à l'Homme (VULPIANI, 2011).

Les chiens infectés doivent également faire l'objet de moyens de prévention visant à empêcher les phlébotomes de se nourrir de leur sang (II.3.c). De plus, des mesures doivent être adoptées pour limiter le risque de transmission non vectorielle. Pour cela, les animaux infectés doivent être retirés des listes de donneurs de sang, et doivent éviter d'être mis à la reproduction ou de voyager en dehors des zones d'enzootie.

La vaccination pourrait constituer un moyen efficace de lutter contre les leishmanioses. Son objectif est d'induire une réponse immunitaire de type Th1, avec activation des macrophages et production de molécules leishmanicides. De nombreuses stratégies vaccinales ont été mises au point et testées (voir partie III). Actuellement, il n'existe aucun vaccin humain, mais trois vaccins canins ont obtenu une AMM : Leishmune® (Brésil, 2004), Leish-tec® (Brésil, 2008) et plus récemment Canileish (AMM européenne le 14 mars 2011, commercialisé au Portugal depuis mai 2011 et en France depuis septembre 2011, Espagne, Grèce et Italie à venir). En agissant sur le réservoir canin, on espère une fois encore diminuer l'incidence de leishmaniose viscérale zoonotique de l'Homme.

Un autre moyen de contrôle du réservoir canin est l'euthanasie des chiens. Dès 1946, Adler et Tchernomoretz, n'arrivant pas à traiter efficacement les chiens atteints de leishmaniose en Palestine, ont proposé de les déplacer ailleurs ou de les éliminer. Dès les années 1950, deux programmes de contrôle de la leishmaniose ont été mis en place en Chine et en Union Soviétique, face à une forte incidence et à une large distribution de la maladie (COSTA, 2011).

En Chine, la situation était particulière puisque trois patterns épidémiologiques co-existaient. Le principal était la leishmaniose viscérale anthroponotique, dans les plaines et les vallées surpeuplées. Le second était la leishmaniose viscérale zoonotique, associée à la présence de chiens infectés, dans les montagnes. Le troisième était une leishmaniose viscérale probablement zoonotique mais sans réservoir animal connu, dans le désert du nord-ouest. Dès 1949, trois mesures ont été prises pour diminuer l'incidence de cette maladie : le traitement en masse des malades humains (stibiés pentavalents), l'usage d'insecticides à l'intérieur et à l'extérieur des maisons (DDT, remplacé dans les années 80 par les pyréthrinoides) et l'élimination de tous les chiens en zone d'endémie (sans sélection). En 1958, la transmission en zone de leishmaniose viscérale anthroponotique était interrompue. Cependant, ce résultat ne fut pas attribué à l'élimination des chiens mais au traitement de masse, ainsi qu'au DDT qui permit l'élimination de *P. chinensis*, principal vecteur dans les basses terres.

Dans l'ancienne République Soviétique, où la maladie était due à *L. infantum* et affectait les humains et les chiens, les moyens mis en œuvre furent identiques, avec d'excellents résultats, mis à part dans certaines régions où l'on soupçonna les coyotes de constituer un réservoir sauvage.

Dans les deux cas, l'impact de l'élimination des chiens fût difficile à évaluer mais il n'était pas majoritaire.

Au Brésil, la lutte contre la leishmaniose débuta en 1953 avec la mise en œuvre des mêmes stratégies, mise à part l'euthanasie qui ne concernait que les chiens séropositifs aux tests de détection (COSTA, 2011). Dans une étude parue en 1961, sur 14 municipalités utilisant le

DDT, une diminution de 58,2% de l'incidence de leishmaniose viscérale humaine a été notée, contre une augmentation de 11,9% dans les municipalités ne pratiquant que l'élimination des chiens. D'une manière générale, des études brésiliennes ont montré que l'euthanasie des chiens séropositifs joue certainement un rôle dans la diminution de l'incidence des cas de leishmaniose viscérale humaine, mais qu'elle ne l'explique pas à elle seule. Ceci, associé au fait qu'elle est très mal perçue dans la société (notamment par les propriétaires de chiens), en fait le moyen de prévention le moins acceptable. Pourtant, de nos jours, le Brésil reste le seul pays à l'utiliser pour contrôler la leishmaniose viscérale zoonotique à grande échelle. De plus, en 2009, une assemblée d'experts réunis par le Ministère de la Santé brésilien a réévalué et confirmé la décision prise en 2008 d'interdire le traitement des chiens leishmaniens, et ce pour plusieurs raisons. D'une part, des chiens infectés sont des sources de *L. infantum* pour d'autres chiens et pour les Hommes, et aucun traitement ne peut parvenir à éliminer cette infectiosité. D'autre part, un traitement peut induire des résistances de la part des parasites. Enfin, traiter les chiens gêne la coopération des propriétaires dans la stratégie d'élimination. Globalement, l'euthanasie des chiens séropositifs se heurte à plusieurs problèmes (COURTENAY, 2002):

- Ethique, avec une réticence de l'opinion publique, car les chiens domestiques font désormais partie de la famille.
- L'incidence est trop élevée dans certaines zones, il faudrait éliminer beaucoup plus d'individus.
- Les moyens de détections utilisés ne sont pas toujours très sensible, de sorte que le nombre de chiens séropositifs est sous-estimé (en particulier les infectés asymptomatiques).
- Il faut un délai assez long entre la détection d'un cas et son euthanasie.
- Les propriétaires auraient tendance à remplacer leur chien défunt très rapidement, par un chiot, très sensible à la maladie.
- Des réservoirs sauvages sont parfois présents et maintiennent un cycle de transmission péri-domestique.
- La catégorie de chiens visée par l'élimination joue un rôle dans l'efficacité de la mesure. En Iran, les chiens errants sont automatiquement éliminés dans une stratégie de prévention globale de toute maladie qu'ils pourraient éventuellement transmettre. Comme les chiens errants sont dénigrés, leur élimination pose beaucoup moins de problèmes que celle de chiens domestiques. De plus, ils sont euthanasiés de suite, alors que le délai et les formalités sont beaucoup plus longs lorsque cela concerne les chiens domestiques (GAVGANI, 2002).

### *c. Contrôle des vecteurs et prévention des piqûres de phlébotomes*

Cela passe d'abord par des mesures sanitaires s'appuyant sur la connaissance des vecteurs et des facteurs de risque qui leur sont liés dans une région donnée :

- Garder les chiens à l'intérieur du crépuscule à l'aube pendant la période d'activité des phlébotomes (mai à octobre en région tempérée).
- Eviter de maintenir des habitats favorables aux phlébotomes près des habitations ou des lieux de vie des chiens, ce qui passe par l'élimination des points d'eaux stagnantes et une bonne gestion des ordures.
- De manière générale, éviter de promener les chiens dans des zones à risque lors de période à risque.

Des moyens de lutter contre les phlébotomes sont mis en place dans les habitations ou les chenils :

- Moustiquaires : les phlébotomes étant de très petite taille, ils sont capables de passer à travers les mailles. De plus, une moustiquaire n'est plus efficace à partir du moment où elle est trouée ou mal posée. C'est pour cela que l'utilisation de moustiquaires imprégnées de pyréthrinoïdes est recommandée. Cette famille de composés a un effet répulsif et insecticide, d'action rapide et durable. Elle présente peu de toxicité pour l'Homme et le chien. Il existe des moustiquaires pré-imprégnées, ou des kits d'imprégnation.
- Sprays ou aérosols/diffuseurs électriques/spirales : doivent être utilisés dans des pièces aérées ou à l'extérieur. En effet, un rapport de l'AFSSET (2010) a souligné le danger lié à la libération de substances potentiellement toxiques par contact prolongé lors de la combustion des spirales anti-moustiques.
- Pièges : lumineux, ultrasons, plantes.
- Ventilateurs : utiles au crépuscule car les phlébotomes craignent la vitesse du vent.
- Huiles essentielles.

La prévention passe également par l'utilisation de molécules insecticides et répulsives sur l'animal. Elles empêchent les phlébotomes sains de se contaminer en piquant des chiens infectés, et les phlébotomes infectés de transmettre le parasite à des chiens sains. La famille des pyréthrinoïdes remplit ce rôle. Ainsi, deux produits disposent actuellement d'une AMM en France pour la prévention des piqûres de phlébotomes :

- L'association perméthrine-imidaclopride en spot-on (ADVANTIX®), avec une durée d'action de quinze jours contre *P. papatasi* et trois semaines contre *P. perniciosus*. L'application doit être faite au moins deux jours avant l'entrée en milieu infesté (ce qui implique que les effets se mettent en place en deux jours).
- La deltaméthrine (collier SCALIBOR®) : prévient les piqûres de phlébotomes pendant une durée de cinq mois selon l'AMM (DMV 2011). Cependant, l'effet répulsif, en conditions optimales, peut perdurer plus de six mois. Le principe actif est libéré progressivement et est distribué dans le tissu adipeux en une à deux semaines (SOLANO-GALLEGO, 2009), délai nécessaire entre la mise en place du collier et l'entrée en milieu enzootique.

L'efficacité de ces colliers à diminuer l'incidence de la leishmaniose canine a été montrée par des études de terrain, en Italie et au Brésil notamment. Une étude iranienne a confirmé le fait, mais a également montré l'efficacité de cette mesure préventive sur les cas de leishmaniose viscérale humaine zoonotique, avec une réduction du risque d'infection par *L. infantum* chez les enfants côtoyant les chiens protégés, par rapport aux enfants côtoyant les chiens témoins (GAVGANI, 2002).

D'autres antiparasitaires à base de pyréthrinoïdes ont également une action contre les phlébotomes, même si cela n'est pas précisé dans leur AMM. Le DUOWIN® (association pyriproxifène-perméthrine en spray ou line-on) est ainsi cité.

L'efficacité des traitements anti-parasitaires est optimale si le changement du collier ou l'application des produits sont réalisés aux fréquences préconisées. Ceci n'est pas toujours le cas.



### III. VACCINS ANTI-LEISHMANIENS : DE LA LEISHMANISATION A CANILEISH®

Un vaccin est un produit biologique, créé à partir d'organismes atténués ou inactivés, ou à partir de certains de leurs composants, produits ou toxines purifiés. Le but des antigènes vaccinaux est d'être reconnu par le système immunitaire de l'organisme à protéger (antigénicité), déclencher une réaction immunitaire (immunogénicité) sans pour autant déclencher de maladie (pathogénicité).

#### 1. Historique

La vaccination contre la leishmaniose cutanée a historiquement reçu une attention plus importante comparée à celle contre la leishmaniose viscérale. En effet, on a très tôt remarqué que les personnes qui guérissaient de premières lésions de leishmaniose cutanée étaient ensuite protégées des infections ultérieures. Cependant, le vaccin idéal devrait conférer une immunité croisée contre les différentes espèces de *Leishmania*, et donc protéger contre tous les types de leishmanioses. Récemment, l'analyse comparative des génomes de *L. major*, *L. infantum* et *L. braziliensis*, responsables de formes cliniques différentes, a montré une conservation importante entre leurs génomes respectifs. Toutefois, dans le cas où l'induction d'une immunité croisée serait impossible, priorité devrait être donnée à la protection contre la leishmaniose viscérale, étant donné la gravité de cette maladie.

Le vaccin idéal doit aussi regrouper un certain nombre de caractéristiques indispensables, telles que l'induction d'une réponse immunitaire de type cellulaire forte et persistante, une efficacité prophylactique et thérapeutique, une bonne sécurité d'emploi et une production à moindre coût.

A ce jour, un grand nombre de formules vaccinales ont été testées, sur des souris, hamsters, singes et chiens. Cependant, aucun modèle n'a encore réussi à reproduire *in vivo* tous les aspects de la leishmaniose viscérale humaine, ce qui pose problème pour le développement de vaccin contre cette maladie (EVANS, 2012).

Les différents candidats vaccinaux peuvent être divisés en plusieurs groupes :

- Leishmanies vivantes ou modifiées génétiquement.
- Les vaccins de première génération : fractions de parasites ou parasites entiers tués, avec ou sans adjuvant.
- Les vaccins de seconde génération : antigènes parasitaires associés à un adjuvant et à un transporteur, protéines recombinantes, vaccins utilisant des bactéries ou virus recombinants.
- Les vaccins de troisième génération : vaccination génétique (TULASNE, 2009).

##### a. Vaccins vivants et leishmanisation

La leishmanisation, qui consiste en l'inoculation de parasites vivants, est le premier vaccin contre la leishmaniose. Elle fut développée par le professeur Adler, à l'université Hebrew de Jérusalem. Il observa les pratiques des femmes libanaises, qui exposaient les bras de leurs enfants aux piqûres de phlébotomes car elles savaient qu'une lésion se formerait, guérirait, et qu'ils seraient ensuite protégés contre cette maladie (PALATNIK-DE-SOUSA, 2012).

Anciennement, cette pratique consistait en l'administration de parasites provenant de lésions cutanées à des individus sains, par voie intradermique, de préférence en des endroits du corps peu visibles. Cette exposition initiale aux leishmanies protège l'individu contre une infection ultérieure. Au 20<sup>ème</sup> siècle, avec la mise au point de milieux de culture in vitro, les promastigotes purent être produits à large échelle, ce qui permit la diffusion de ce vaccin, notamment dans l'Union soviétique, l'Asie et le Moyen-Orient. En dépit de son efficacité, la leishmanisation fut progressivement abandonnée, pour plusieurs raisons :

- Absence de sécurité vaccinale, due à l'utilisation de parasites vivants
- Persistance de lésions cutanées que l'on ne peut contrôler
- Induction d'une immunodépression, ce qui est très dangereux dans des pays où la co-infection avec le HIV est possible
- Ethique
- Difficulté de standardisation de l'inoculum : les parasites perdent de leur infectivité au-fur-et-à-mesure des passages sur milieux de culture, et la qualité des inoculums est inconstante.

Aujourd'hui, un seul pays, l'Ouzbékistan, emploie encore la leishmanisation comme méthode prophylactique sur des populations hautement à risque. Elle est le vaccin le plus efficace connu chez l'Homme à ce jour, ce qui pousse à chercher à améliorer sa sécurité et sa pratique. L'ajout de parasites tués dans l'inoculum, ainsi que d'adjuvants permet de diminuer la sévérité des lésions et accélérer leur cicatrisation ([EVANS, 2012](#)).

Les progrès récents en termes de manipulation génétique ont permis de créer des souches mutantes produisant une immunité stable sans infection :

- Les mutants « knock-out », pour lesquels on retire, bloque ou change de place des gènes essentiels à la survie chez l'hôte.
- Les mutants chez qui l'on introduit des gènes appelés « cassettes suicidaires », induisant la production de substances létales lors de l'exposition à des substrats inoffensifs.

Aucun de ces essais n'a encore atteint de développement clinique ([TULASNE, 2009](#)).

#### *b. Vaccins de 1<sup>ère</sup> génération*

La recherche de vaccins de première génération utilisant des leishmanies entières tuées ou inactivées date des années 1930. Beaucoup de formulations ont ainsi été testées, avec ou sans adjuvant. Des études ont montré des résultats prometteurs. Cependant, aucun vaccin de ce type n'a encore été mis sur le marché.

#### *c. Vaccins de 2<sup>ème</sup> génération*

Ils utilisent des antigènes leishmaniens obtenus par purification ou clonage de gènes. Trois préparations peuvent être distinguées :

- L'association FML-saponine. Le ligand fucose-mannose (FML) est une fraction purifiée de promastigote de *L. donovani*. Il s'agit d'un complexe glycoprotéique présent à la surface de ce parasite tout au long de son cycle. Il est associé à un adjuvant à base de saponine extraite de l'écorce de *Quillaja saponaria*, un arbre d'Amérique du sud. Cette formulation a obtenu une licence au Brésil en 2003 pour la prophylaxie contre la leishmaniose viscérale canine, et est ainsi devenue le premier vaccin contre la leishmaniose canine, sous le nom de Leishmune®. Utilisé depuis 2004 au Brésil, le vaccin a obtenu une licence définitive en octobre 2011 ([PALATNIK-DE-SOUSA, 2012](#)). Une étude de terrain sur 600 chiens a montré qu'il est bien toléré, sûr, et très immunogène ([TULASNE, 2009](#)). D'autre part, une

formulation enrichie en saponine (concentration doublée) a montré une efficacité thérapeutique contre la leishmaniose viscérale zoonotique, associée ou non à des traitements anti-leishmaniens. Cependant, l'AMM de Leishmune® ne prévoit pas d'utilisation à visée thérapeutique ([PALATNIK-DE-SOUSA, 2012](#)).

- L'association LiESAp-MDP. Étudiée en France, est constitué d'antigènes excrétés/sécrétés (ESA) purifiés à partir de surnageants de culture de promastigotes (p) de *Leishmania infantum* (Li), formulés avec l'adjuvant muramyl dipeptide (MDP). La formule a été remaniée par le laboratoire Virbac® : le MDP a été remplacé par l'adjuvant *Quillaja saponaria*, ce qui a donné la formule finale du vaccin Canileish® contre la leishmaniose canine.
- L'association de l'antigène recombinant A2 de *L. donovani*, exprimé par un adénovirus, avec un adjuvant saponine, a obtenu une licence au Brésil en 2008, sous le nom de Leishtec®. Bien que peu de publications scientifiques aient été publiées à son sujet, on sait que l'immunisation avec cette protéine protège contre l'apparition de signes cliniques de leishmaniose viscérale chez des chiens infectés expérimentalement. De plus, une étude a montré que l'expression de A2 par un adénovirus induit une forte réaction immunitaire de type Th1 chez des souris et réduit la charge parasitaire après challenge infectieux ([EVANS, 2012](#)).

Les vaccins de seconde génération sont plus efficaces, plus stables et moins coûteux à produire que ceux de première génération. Les trois vaccins canins actuellement commercialisés (Leishmune® et Leishtec® au Brésil, Canileish® en Europe) font partie de cette catégorie. Mais les recherches se dirigent actuellement vers la création de vaccins de troisième génération.

#### *d. Vaccins de 3<sup>ème</sup> génération*

La vaccination génétique ou vaccination par ADN nu est un concept novateur né au début des années 90. Il ne s'agit plus d'administrer des parasites entiers vivants ou tués, ni des antigènes seuls ou portés par une bactérie, un virus ou une protéine. Ici, on introduit directement dans la cellule du patient le gène codant pour l'antigène d'intérêt. Ainsi, c'est la cellule du patient qui va directement synthétiser cet antigène. Cette méthode présente un certain nombre d'avantages :

- Elle est simple, peu coûteuse.
- L'antigène est produit sous sa forme native et sur le long terme, ce qui assure une présentation efficace et durable par le système immunitaire et devrait permettre d'éviter le recours aux rappels vaccinaux.
- Un même vaccin peut combiner plusieurs gènes d'intérêt.
- L'immunité induite est à la fois cellulaire et humorale.
- Le risque d'infection post-vaccinale est diminué par rapport aux autres catégories de vaccins.
- Ces vaccins ne nécessitent pas de conservation par la chaîne du froid.

Cependant, il reste encore à évaluer le risque lié à l'intégration de l'ADN introduit dans les cellules de l'organisme ([TULASNE, 2009](#) ; [Institut Pasteur](#)).

## **2. Canileish®**

### *a. Historique : conception et production*

Le vaccin Canileish® est le fruit de la collaboration entre l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement), la société BTV (Bio Vétro Test) et les équipes de R&D du Groupe Virbac, dont BVT est filiale à 100%.

Tout commence au début des années 1990. L'IRD, organisme français de recherche, s'intéresse au moyen de reproduire le cycle complet des leishmanies sans utiliser d'animaux de laboratoire. En 1994, Jean-Loup Lemesre (IRD), dépose un brevet pour un procédé de culture *in vitro*, en milieu complètement défini, qui lui permet de reproduire les principales étapes du cycle des leishmanies et d'accéder aux AES (antigènes d'excrétion-sécrétion) parasitaires (promastigotes et amastigotes).

A cette époque, BVT voit l'intérêt de cette invention pour la production d'antigènes destinés à la mise au point de tests diagnostiques : l'IRD lui en accorde la licence exclusive pour le marché vétérinaire. Les premiers tests produits sont le Leishmatest® (test d'agglutination rapide) et le Fluoleish® (IFI). Puis BVT prend le pari d'aller plus loin en utilisant ces antigènes pour des prototypes de vaccins. Des essais sur des souris puis sur des chiens confirment la capacité des AES à induire une réaction immunitaire de type Th1 ([ROSA, 2007](#)). Ces antigènes, combinés à un adjuvant de l'immunité, sont utilisés avec succès dans un test d'immunothérapie ([BOURDOISEAU, 2004](#)), puis dans des challenges expérimentaux et des essais de terrain en tant que vaccins canins. Lors de ces essais, BTV peut compter sur le soutien de l'unité de parasitologie de l'ENVL (actuelle VetAgroSup).

Virbac entre en jeu en 2003, en rachetant BVT. Le département R&D du laboratoire finalise la formule du vaccin, en changeant l'adjuvant, en industrialisant la production des ESP et en mettant au point des méthodes analytiques : Canileish® naît peu à peu. Des essais de sécurité et d'efficacité sont menés.

Début 2010, le dossier d'enregistrement de Canileish® est soumis à l'EMA (European Medicines Agency). Le CVMP (Committee for Medicinal Products for Veterinary Use) donne une opinion favorable en janvier 2011 et le 14 mars 2011, l'EMA accorde une AMM européenne au vaccin ([source : site EMA](#)).

### *b. Composition du vaccin*

	Substance	Quantité
<b>LYOPHILISAT</b>		
Principe actif	Protéines d'excrétion-sécrétion (ESP)	Au moins 100µg
Adjuvant	Extrait purifié de <i>Quillaja saponaria</i> (QA 21)	60 µg
Excipients	Mannitol, sucrose, trometamol	
<b>SOLVANT</b>		
Excipient	NaCl 0,9% (9 mg/mL)	1 Ml

### *α. Principe actif*

#### Les ESP :

La création d'un vaccin passe par l'identification d'antigènes capables de stimuler efficacement le système immunitaire, sans entraîner d'effets pathogènes.

Les leishmanies sont des parasites complexes, desquels ont été extraites plus de 2000 protéines. Ces dernières ont été divisées en deux groupes :

- Les protéines de surface et protéines sécrétées. Elles jouent tout d'abord un rôle dans l'établissement de l'infection, aidées par certains éléments de la salive du vecteur. Dans un second temps, elles contribuent au maintien de l'infection en agissant sur la

fonction microbicide des macrophages, la présentation d'antigènes, la production de cytokines et l'activation de cellules effectrices. Parmi ces protéines, le LPG et la gp63 ont été cités précédemment (SANTAREM, 2007).

Ces protéines, de par leur position et leur rôle, sont exposées aux défenses de l'hôte et représentent donc des cibles idéales. Cependant, afin de permettre au parasite de croître, se développer et déjouer ces défenses, elles pourraient subir une pression de sélection leur permettant de devenir « invisibles » aux yeux du système immunitaire (CHANG, 2003). Ainsi, il se pourrait que les protéines sécrétées par les amastigotes aient un pouvoir immunogène plus important et des propriétés immunomodulatrices plus intéressantes que celles sécrétées par les promastigotes, car elles ne seraient pas soumises à cette pression de sélection (SANTAREM, 2007).

- Les protéines intracellulaires, aussi appelées « patho-antigènes » ou « panantigènes », sont hautement conservées et induisent de fortes réactions immunitaires. Leur position les protège du contact avec le système immunitaire, auquel elles sont exposées lors de la cytolysse des leishmanies (SANTAREM, 2007). Elles ne sont donc pas accessibles au système immunitaire du vivant des parasites.

Les ESP (Excreted Secreted Proteins) sont au nombre de 50 à 100, et font partie du premier groupe décrit ci-dessus. Elles existent à la fois chez les promastigotes et chez les amastigotes. Certaines études ont montré qu'elles sont de meilleures stimulatrices de l'immunité cellulaire que des extraits protéiques totaux.

Une fraction importante des ESP est constituée par les PSA. Il s'agit d'une famille de glycoprotéines que l'on pensait au début être seulement exprimées par les promastigotes, d'où la signification du nom *Promastigote Secreted Antigen*. Cependant, lorsque l'on découvrit qu'elles étaient aussi exprimées par les amastigotes, le nom fut changé en *Parasite Surface Antigen*, sans que l'acronyme « PSA » en soit modifié (VIRBAC). Pour être précis, il a été avancé que leur expression est beaucoup plus importante chez les promastigotes métacycliques, ce qui serait corrélé à la virulence de ce stade parasitaire. Ces protéines sont tout aussi bien sécrétées par les leishmanies, qu'ancrées dans leur membrane. Leur structure se caractérise par des séquences répétitives LRR (Leucine-Rich Repeats) connues pour favoriser les interactions protéines-protéines et protéines-glycolipides. Ces propriétés font qu'elles sont impliquées dans les relations hôte-parasite. Les PSA sont produites par des gènes hautement conservés entre les différentes souches de *L. infantum*, ainsi qu'entre les espèces *L. infantum*, *L. major* et *L. braziliensis* (DEVAULT, 2008).

Grâce à la mise au point d'un milieu de culture breveté, il est possible de réaliser *in vitro* et à l'échelle industrielle le cycle complet des leishmanies, et d'extraire par plusieurs étapes d'ultrafiltration les ESP produites par les parasites dans leur conformation native.

#### Un milieu de culture novateur :

Jusqu'aux années 90, le modèle expérimental le plus utilisé pour étudier les leishmanioses était la forme promastigote. Or c'est la forme amastigote qui est présente chez l'hôte infesté, participant au développement de la maladie et de la réaction immunitaire. Il n'était donc pas pertinent d'extrapoler les résultats expérimentaux obtenus sur des cultures de formes promastigotes, dans l'objectif d'études immunoprophylactiques ou diagnostiques centrées sur les formes amastigotes. Plusieurs auteurs se sont alors penchés sur le moyen d'obtenir des formes amastigotes (LEMESRE, 1994a).

Les premières méthodes décrites consistaient en l'isolement à partir de tissus d'animaux ou de macrophages infectés expérimentalement. Cependant, elles présentaient des inconvénients notables. En premier lieu, ces techniques étaient longues et fastidieuses. De plus, le nombre de parasites obtenus était faible, et ces derniers se révélaient souvent dégénérés, incapables de se multiplier et de survivre plus de deux ou trois jours. Enfin, ces amastigotes

étaient « contaminés » par des cellules, des fragments et des molécules issues des macrophages, des tissus ou du plasma des hôtes (LEMESRE, 1994b).

En 1994, Jean-Loup Lemesre, chercheur à l'IRD, a déposé un brevet pour un procédé de culture *in vitro* novateur. Il permet d'obtenir de manière standardisée, reproductible et massive, les différentes formes correspondant aux différents stades parasitaires des leishmanies. Différents milieux sont réalisés, chacun bien défini (composition, température, pH) afin de permettre la croissance et la multiplication de chaque stade parasitaire, et le passage de l'un à l'autre. Par exemple, le pH optimal pour la croissance des amastigotes doit être compris entre 5,5 et 6,5. En dessous de 5,5, la croissance est mauvaise, et au delà de 6,5, les amastigotes ont tendance à se retransformer en promastigotes. La principale caractéristique de ces milieux, et qui fait tout leur intérêt, est qu'ils sont dépourvus de contaminants sériques ou cellulaires, ainsi que de macromolécules (de taille supérieure à 3kDa, telles que l'albumine). Ils contiennent une quantité précisément définie de petites molécules (sels minéraux, sucres, hémine, tampon, nucléotides, vitamines, acides aminés) (VIRBAC, 2011). Ces milieux ouvrent la voie à de nombreuses applications. Ils permettent ainsi de réaliser un cycle complet de leishmanie en moins de 15 jours (plus facilement et plus rapidement qu'avec les méthodes *in vivo* existantes). De plus, ils permettent de recueillir, par lyse cellulaire des amastigotes ou promastigotes, des « extraits polypeptidiques totaux » ou « extraits antigéniques totaux » (protéiques, lipidiques, saccharidiques) utilisables pour des applications immunologiques. Les ESP (Antigènes d'Excrétion Sécrétion) sous leur forme native, sont quant à eux récupérés à partir de surnageants obtenus par concentration et dialyse.

Ce procédé de culture est applicable à divers parasites, et diverses espèces d'un même parasite (LEMESRE 1994b).

Il a été adapté par l'unité R&D de Virbac pour une production industrialisée des ESP vaccinaux (VIRBAC, 2011).

### β. Adjuvant

L'adjuvant utilisé dans Canileish® est le QA 21, aussi appelé QS 21. Il s'agit d'un extrait purifié de saponine, issu de l'écorce de *Quillaja saponaria*, un arbre que l'on retrouve dans les Andes.

Selon la définition de Ramon (1924), les adjuvants sont des « substances utilisées combinées à des antigènes spécifiques, qui ont pour rôle de produire une réponse immunitaire plus forte que l'antigène seul » (RAJPUT, 2007).

Ces composés ont plusieurs rôles dans la modulation de la réponse immunitaire :

- Augmentation de l'immunogénicité des antigènes « faibles ».
- Augmentation de la vitesse d'établissement de la réponse immunitaire et de sa durée.
- Modulation de la réponse des anticorps.
- Stimulation de la réponse à médiation cellulaire.
- Induction d'une immunité mucoale.
- Renforcement de la réponse immunitaire chez des individus immatures ou sénescents.
- Diminution de la dose d'antigènes nécessaire.
- Atténuation de la compétition entre antigènes lorsque le vaccin se compose de plusieurs valences (RAJPUT, 2007).

Les saponines sont composées d'un aglycone stéroïde ou triterpénoïde, auquel sont attachées une ou plusieurs chaînes glucidiques (RAJPUT, 2007). De faibles doses suffisent à stimuler l'immunité de type Th1 et Th2, ainsi que les lymphocytes T cytotoxiques, et à potentialiser la réponse à des antigènes mucoaux. Le mécanisme d'action des saponines sont encore mal connus. Elles sembleraient favoriser la production de cytokines telles que les interleukines et les interférons. Elles s'incorporeraient également dans les membranes cellulaires, et leur interaction avec les molécules de cholestérol induirait la formation de pores qui pourraient favoriser la présentation d'antigène.

Quil-A est une fraction composée de plus de 23 saponines différentes, issue de l'écorce de *Quillaja saponaria*. Elle a été largement utilisée en médecine vétérinaire, en particulier pour des vaccins destinés au bétail, porcins, équidés, chiens et chats (SPICKLER, 2003). Mais elle est considérée comme trop toxique pour une utilisation en humaine. En effet, outre la possibilité de réactions locales sévères et la formation de granulomes (qui peuvent cependant être supprimées en associant Quil-A à des liposomes contenant du cholestérol), l'affinité des saponines pour le cholestérol des membranes des globules rouges en font un agent hémolytique (SPICKLER, 2003 ; RAJPUT, 2007). En 1991, des fractions purifiées ont été extraites de Quil-A, notamment le QA-21, qui est moins toxique et a été utilisé dans des essais sur des vaccins humains (VIRBAC). En médecine vétérinaire, il est utilisé dans le vaccin Leucogen®, et Canileish®. Dans une étude, (SANTOS, 2002), 5 adjuvants ont été testés pour la vaccination de souris avec l'antigène FML de *Leishmania donovani* :

- 3 saponines : Riedel de Haën, Quil-A (mélanges), QS-21 (extrait purifié).
- BCG.
- IL-12.

Les résultats ont montré que Quil-A et QS-21 induisent la plus forte réponse IgG2A et entraînent la plus forte diminution de charge parasitaire mesurée dans le foie (réduction de 93% et 79,2% respectivement). De plus, QS-21 entraîne la plus forte production d'IFN $\gamma$ .

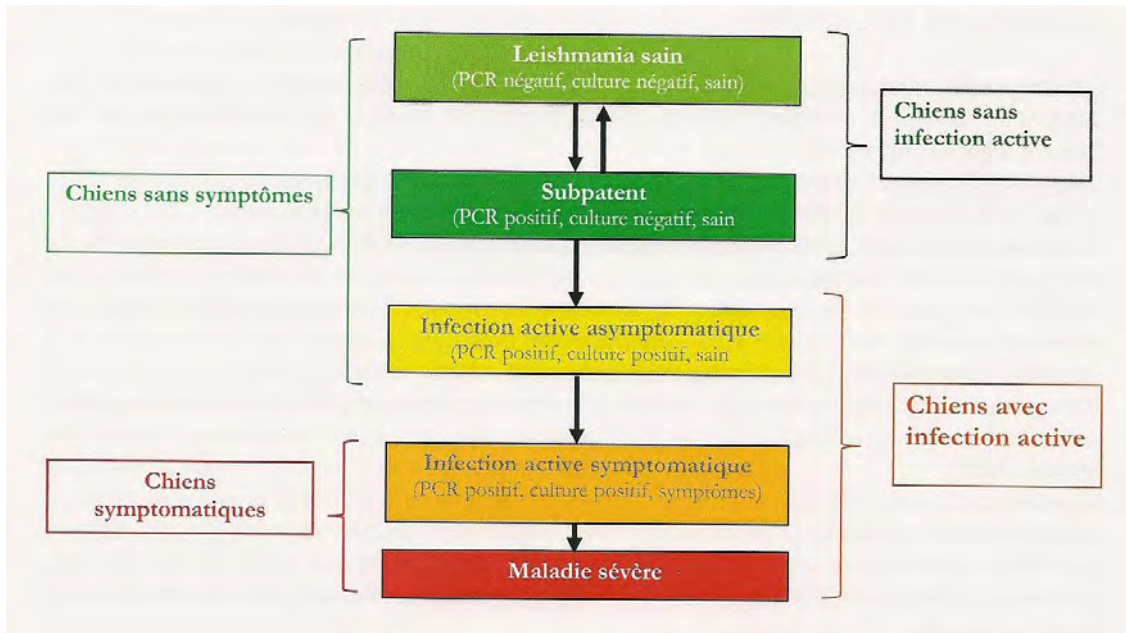
L'utilisation de QS-21 dispose donc d'un très bon rapport bénéfice-risque.

Le QA-21 a été choisi comme adjuvant lorsque le laboratoire Virbac est entré en jeu. Auparavant, les essais étaient réalisés avec l'adjuvant MDP (Muramyl DiPeptide), composé actif issu d'un peptidoglycane de la paroi de mycobactéries. Cet adjuvant peut causer d'importants effets secondaires tels que fièvre, arthrite et uvéite. Des dérivés moins toxiques ont été mis au point : des dérivés hydrophiles, qui favorisent la réponse immunitaire de type Th2, et les dérivés lipophiles, qui induisent plutôt une réponse de type Th1 (SPICKLER, 2003).

### *c. Etudes d'efficacité et de sécurité*

#### *α. Efficacité*

Plusieurs essais ont été menés afin de tester de manière la plus complète possible l'efficacité du vaccin Canileish®. Le système de classification ci-dessous, dérivé de plusieurs publications de référence, a servi de base pour la détermination du statut des chiens inclus dans les études (**schéma 12**).



**Schéma 12 : Système de classification du statut leishmanien (source : Virbac)**

Les objectifs de Canileish® sont d'une part de diminuer le nombre de chiens symptomatiques, mais également de minimiser le nombre de chiens porteurs asymptomatiques, qui peuvent aussi contaminer les phlébotomes. Il faut également vérifier que l'immunité induite est solide, spécifique et adaptée à des parasites intracellulaires. Pour tester l'efficacité clinique du vaccin, deux types d'essais ont été réalisés : un challenge expérimental et une étude de terrain.

### **Protection clinique :**

#### ➤ *Challenge expérimental :*

20 chiens âgés de 26 mois ont été répartis en deux groupes :

- Groupe 1 : 10 chiens vaccinés (3 injections à 3 semaines d'intervalle) avec une formulation de Canileish® contenant 10% d'antigènes de moins que la formulation commerciale.
- Groupe 2 : 10 chiens témoins.

Un an après la fin de cette primovaccination, la totalité des animaux a été infectée expérimentalement par l'injection intra-veineuse de  $10^{8,5}$  promastigotes hautement virulents de *Leishmania infantum*, préparés à partir d'amastigotes prélevés dans la rate de chiens infectés (ceci représente des conditions extrêmes d'inoculation afin de produire une infection active sur le maximum de chiens).

Le suivi s'est déroulé sur un an après l'inoculation, toutes les semaines. Il consistait en une évaluation clinique ainsi qu'en des PCR quantitatives et des cultures sur prélèvements de moelle osseuse.

A la fin de l'étude, les chiens ont été classés selon le système décrit ci-dessus. Dans le groupe contrôle, 70% présentaient une infection active asymptomatique, 10% étaient subpatents, et 20% étaient sains. Dans le groupe des chiens vaccinés, 30% présentaient une infection active asymptomatique et 70% étaient sains.

La conclusion émise a été que la vaccination avec Canileish® apporte un réel bénéfice, et que l'immunité apportée a une durée d'au moins un an.



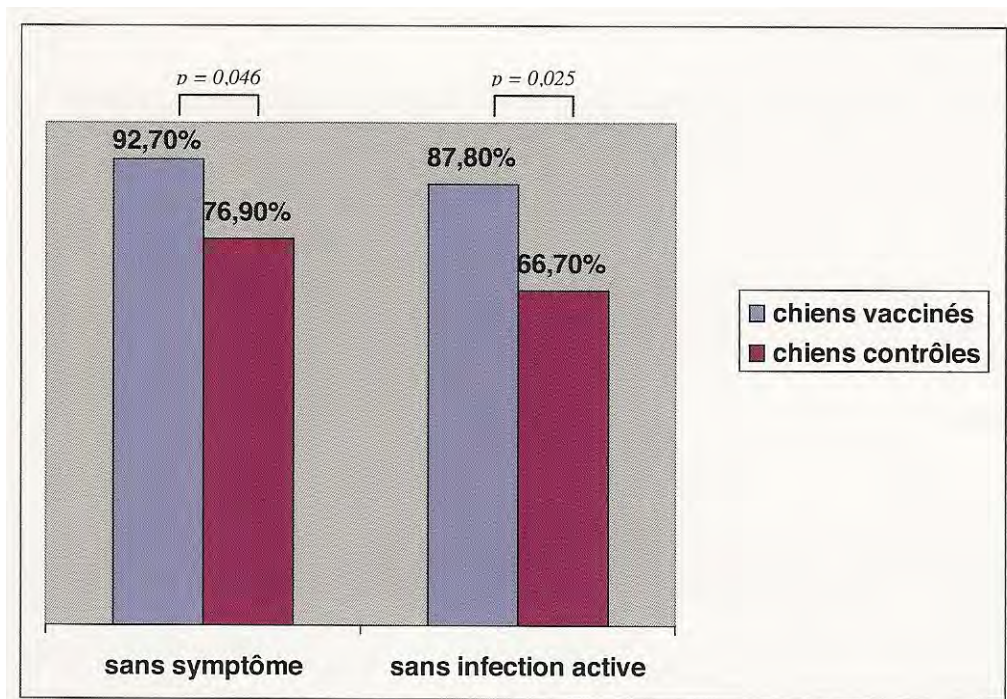
➤ *Etude de terrain :*

Le but de cette étude est de valider l'efficacité du vaccin dans des conditions extrêmes d'infestation naturelle. Deux chenils, l'un près de Naples et l'autre près de Barcelone, ont été choisis comme étant les plus représentatifs de ces conditions à partir de données épidémiologiques de prévalence de leishmaniose. 80 chiens âgés de 5 à 7 mois et naïfs vis-à-vis du parasite ont été placés dans ces chenils, et répartis en deux groupes : 41 vaccinés (protocole classique du primovaccination, suivi de rappels annuels) et 39 témoins.

Les chiens ont été maintenus sur site pendant 2 ans, de juin-juillet 2007 à juin-juillet 2009, ce qui correspond à deux saisons complètes d'activité des phlébotomes. Les chenils étaient maintenus ouverts nuit et jour, et aucun répulsif topique ou environnemental n'a été utilisé.

Le suivi des animaux par les laboratoires d'analyse et les vétérinaires a été réalisé en aveugle. Des examens cliniques ainsi que des examens complémentaires (sérologie IFAT, hématologie, biochimie, cultures parasitaires à partir de ponctions de moëlle osseuse ou de nœud lymphatique, PCR à partir de ponction de moëlle osseuse) réguliers ont permis de classer les déterminer le statut des animaux vis-à-vis de la leishmaniose à la fin de l'étude, selon le système présenté sur le **schéma 12**.

Les résultats sont présentés sur le **graphique 2**.



Graphique 2 : Résultat de l'essai de terrain sur l'efficacité de Canileish (source : Virbac)

Ils montrent que la vaccination a permis de réduire significativement le risque d'entrer en infection active ou même de développer les symptômes de la leishmaniose. Le calcul des Odds ratios a mené à la conclusion que la vaccination permet de diminuer d'un facteur 4 le risque de développer la maladie.

**Mode d'action de Canileish® :**

Au cours du développement de Canileish®, une série de tests ont été réalisés afin de montrer que la vaccination induit une réponse de type Th1 favorisant la destruction des parasites par les macrophages.

➤ *Réponse sérologique :*

Chez les souris et les humains, la production d'IgG2 est indicatrice d'une réponse de type TH1, alors que les IgG1 sont corrélées à une réponse TH2. Ce n'est pas le cas chez le chien. Mais même si le type d'immunoglobuline produit ne permet pas de caractériser l'orientation de la réponse immunitaire, la sérologie peut donner des indications sur le caractère immunogène d'un antigène, sa capacité à être présenté au système immunitaire par les CPA (Cellules Présentatrices d'Antigènes) et l'aptitude de ce dernier à développer une mémoire.

Ainsi, des chiens vaccinés avec Canileish® selon le protocole standard ont été suivis par sérologie ELISA utilisant comme antigènes des ESP ou des PSA. Les résultats ont montré que :

- Une bonne réponse aux ESP et PSA est obtenue 3 semaines après la fin de la primovaccination.
- Un test d'hypersensibilité retardé (ou test de Monténégro) utilisant comme antigène la leishmanine (suspension tuée de promastigotes entiers ou détruits), réalisé un an après la fin de la primovaccination, entraîne une réaction locale en 48-72h ainsi qu'une forte réponse IgG témoignant d'une mémoire immunitaire.

➤ *Reconnaissance et présentation des antigènes :*

Deux tests sont utilisés :

- Le LTT (Lymphoblastic Transformation Test) est un test biologique qui explore une hypersensibilité de type retardée (type IV), c'est-à-dire médiée par les lymphocytes T mémoires. L'antigène est reconnu par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) puis présenté aux lymphocytes T mémoire déjà sensibilisés qui vont se transformer en lymphoblastes et se multiplier. Dans notre cas, des lymphocytes sont isolés à partir de chiens vaccinés avec Canileish® et sont stimulés par l'antigène leishmanine. Au cours de cette transformation cellulaire, de nombreux mécanismes biologiques s'observent, comme la synthèse de protéines, d'ARN et d'ADN. Ainsi, on peut quantifier la transformation en mesurant la réplication d'ADN, par l'incorporation d'un marqueur radioactif, la thymidine tritiée, base entrant dans sa composition. On peut aussi l'observer par simple lecture au microscope ([DUCHE, 2005](#)).
- Le test ELISpot complète les informations fournies par le LTT. Il utilise la technique immunoenzymatique ELISA pour mettre en évidence la sécrétion d'une protéine. Dans le cas de la vaccination contre la leishmaniose, il mesure la production d'IFN $\gamma$  par les lymphocytes T stimulés par LTT. Des anticorps spécifiques des IFN $\gamma$  sont immobilisés au fond de puits. Les lymphocytes T mémoires isolés à partir d'un chien vacciné et stimulés par les leishmanines vont, si la vaccination est efficace, se multiplier, se différencier et produire des cytokines correspondant à un profil immunitaire de type TH1, dont des IFN $\gamma$ . Ces derniers se lient aux anticorps spécifiques. Les cellules sont ensuite éliminées par lavage et les complexes immuns formés sont mis en évidence par l'ajout d'anticorps de détection, eux-mêmes conjugués à des marqueurs colorés ([ELISpotINFO, 2013](#)).

Ces deux tests, utilisés conjointement, ont montré que la vaccination avec Canileish® induit une protection adéquate, par l'activation de lymphocytes T mémoire et la polarisation vers une réponse immunitaire de type Th1 lors de la mise en contact avec un antigène leishmanien, jusqu'à deux ans après la primovaccination.

➤ *Activité leishmanicide des macrophages :*

Elle est mise en évidence par un test appelé CMLA (Canine Macrophage Leishmanicidal Assay). On prélève un échantillon de sang sur un chien vacciné avec Canileish®, à partir duquel on isole les lymphocytes des monocytes. Ces derniers sont mis en culture et se développent en macrophages, qui sont ensuite infectés expérimentalement par des promastigotes. Puis ils sont remis en contact avec les lymphocytes.

Si une population de lymphocytes Th1-mémoire est présente, elle va répondre à la présentation d'antigène leishmanien par les macrophages infectés, ce qui aboutira à la production d'IFN $\gamma$  (comme vu ci-dessus). Ces cytokines vont en retour stimuler les macrophages et leur activité leishmanicide. Cette dernière va être mise en évidence par plusieurs paramètres :

- L'induction de l'enzyme iNOS (NO-synthase inductible)
- La production de dioxyde nitrique NO<sub>2</sub> (mesure indirecte de la formation d'oxyde nitrique NO).

Le laboratoire Virbac a utilisé ce test afin de prouver l'efficacité de Canileish® sur l'activation macrophagique. Une étude similaire ([HOLTZMULLER, 2005](#)) s'est intéressée à l'immunisation avec des ESP de leishmania infantum formulés avec de l'adjuvant MDP (Muramyl DiPeptide). Différents marqueurs de l'activité macrophagique étaient alors évalués :

- L'indice parasitaire, calculé à partir de la détermination microscopique du nombre d'amastigotes par macrophage et du pourcentage de macrophages infectés.
- L'activité de la NO-synthase, objectivée par détermination du pouvoir leishmanicide de macrophages infectés et mis en culture avec des inhibiteurs compétitifs de cette enzyme.
- La mesure et la comparaison des quantités d'IFN $\gamma$  et d'IL-4 produites.
- Le calcul du rapport NO<sub>3</sub>-/NO<sub>2</sub>- produits.
- L'observation du phénomène d'apoptose des amastigotes internalisés, par deux méthodes : la première permettant de colorer les noyaux des parasites en apoptose, la seconde mettant en fluorescence les cellules parasitaires apoptotiques.

## $\beta$ . Sécurité vaccinale

Les réactions vaccinales peuvent être classées selon plusieurs types :

- « locales » ou « générales ». Les réactions locales, au point d'injection, sont faciles à mettre en lien direct avec la vaccination. La relation de cause à effet avec certaines réactions générales est parfois plus délicate
- « normales » ou « inappropriées » : la fièvre passagère, la fatigue, l'inflammation locale ou la douleur modérée au point d'injection sont considérées comme normales car elles sont le témoin de la mise en place d'une réaction immunitaire. Des réactions plus intenses ou plus persistantes dans le temps sont anormales.

Les principaux effets secondaires inappropriés que peut induire un vaccin sont :

- Une réaction allergique.
- L'expression de la virulence ou de la toxicité de l'antigène utilisé.
- Le développement de la maladie contre laquelle on veut protéger, chez les individus immunodéficients.
- Des complications neurologiques.
- Des effets délétères sur un éventuel fœtus par passage de la barrière hémato-placentaire.

L'allergie peut être provoquée par n'importe quel type de protéine considéré comme étranger par un organisme. Le milieu de culture particulier des parasites, dépourvu en contaminants ou macromolécules, permet d'assurer que les seules protéines recueillies sont les ESP.

Les autres problèmes sont en général liés à l'utilisation de parasites entiers, vivants, atténués. La composition de Canileish® (ESP) permet d'éviter ces complications. Enfin, comme tout vaccin, il est par précaution déconseillé de vacciner des femelles gestantes.

Les tests de sécurité vaccinale s'appuient sur la mise en œuvre de conditions extrêmes :

- Injection d'une dose supplémentaire de primo-vaccination.
- Surdosage.
- Vaccination de chiens plus jeunes que l'âge minimum conseillé.
- Pas de massage du site d'injection après la vaccination.

Pour Canileish®, les réactions observées au cours de ces tests se sont révélées très favorables : hyperthermie transitoire, réactions locales transitoires.

Deux études de terrain se sont intéressées au suivi de chiens ayant subi une primovaccination avec Canileish®, dans des conditions classiques d'utilisation.

Pour la première, les vétérinaires devaient assurer un suivi clinique et anamnestique des chiens vaccinés, à J0, J0+4h, J2, J7, J14 et J21 après chacune des trois injections.

Les effets secondaires notés dans les 15 jours suivant une injection étaient comptabilisés. Des réactions locales ont été relevées dans environ 25% des cas, et sont de type : œdème, douleur au site d'injection, érythème, nodules, adénopathie. Les réactions générales, concernant 15 à 20% des chiens, étaient de type : apathie, baisse d'appétit, hyperthermie, diarrhée, vomissement.

Dans la seconde étude, ce sont les propriétaires qui étaient mis à contribution. Le nombre de réactions relevé est beaucoup plus faible que par les vétérinaires, ce qui témoigne de la présence possible de réactions n'ayant pas de caractère de gravité pour les propriétaires, ou considérées comme normales après une vaccination, donc non signalées au vétérinaire traitant.

En bilan, le laboratoire recommande aux vétérinaires de prévenir les propriétaires de la survenue possible d'effets secondaires suite à la vaccination, comme une réaction inflammatoire au point d'injection ou une fatigue passagère (VIRBAC).

Ces réactions, comme pour toute vaccination, ne sont pas forcément préjudiciables puisqu'elles attestent d'une réaction du système immunitaire.

#### *d. Utilisation pratique*

L'objectif de Canileish® est de conférer une immunité de type Th1 la plus efficace possible à des chiens séronégatifs. Toutes les recommandations et contraintes émises par le laboratoire concernant le protocole vont dans ce sens.

La primovaccination consiste en 3 injections sous-cutanées réalisées à 3 semaines d'intervalle. L'immunité est acquise 4 semaines après la dernière injection, pour une durée théorique de 1 an. Les rappels sont donc annuels (une injection).

L'âge minimum pour la primo-vaccination est de 6 mois, car la mise en place de l'immunité de type cellulaire est plus tardive que celle de l'immunité de type humoral. De plus, afin de limiter les interactions, il est recommandé de ne pas vacciner simultanément contre la leishmaniose et contre les autres valences : un délai d'au moins 14 jours est préconisé.

Les chiens vaccinés doivent être séronégatifs pour la leishmaniose : un dépistage doit donc être effectué préalablement. Le test qualitatif rapide Speed Leish K® est aisément réalisable en clinique (voir paragraphe A.II.1.d). S'il est négatif, l'animal peut être vacciné. S'il est positif, une sérologie quantitative par IFI (méthode de référence) doit être effectuée. Si cette dernière se révèle négative, l'animal peut être vacciné (mais il peut être PCR positif !). Dans

le cas contraire, les recommandations sont données au paragraphe A.II.1.d et l'animal ne peut être vacciné.

Le vaccin doit être conservé au réfrigérateur. Pour le confort de l'animal, il peut être réchauffé à température ambiante ou dans la paume de la main avant l'injection. Il doit être administré immédiatement après reconstitution.

*e. Vers un vaccin humain contre la leishmaniose*

Il n'existe pas à ce jour de vaccin humain commercialisé contre la leishmaniose. Les deux principales raisons sont l'énorme investissement en temps (10 à 15 ans) et le coût (100 à 500 millions de dollars).

La leishmanisation, bien que rejetée pour des considérations éthiques et sécuritaires, présente certains avantages. En particulier, il semble établi que des individus immunocompétents infectés par des leishmanies développent le plus souvent des formes asymptomatiques ou subcliniques, et acquièrent par la suite une immunité robuste et durable. Historiquement, des essais sur des vaccins de première génération, utilisant des parasites entiers atténués ou morts, ont donné des résultats mitigés voire décevants. La recherche se tourne donc vers le développement de vaccins de seconde génération (protéines recombinantes, polyprotéines, vaccins ADN...). A ce jour, un seul vaccin de ce type est en développement clinique chez l'Homme, financé par la fondation Bill et Mélinna Gates. Cependant, trois vaccins de seconde génération sont en développement préclinique (un aux USA et deux en Europe) :

- Un vaccin polyprotéines LEISH-F3.
- Un vaccin ADN LEISHDNAVAX.
- Un vaccin peptidique de synthèse RAPSODI (LEMESRE, 2012).

Le laboratoire VIRBAC est un des partenaires participant au projet RAPSODI. Ce projet de vaccin est intéressant dans le sens où les antigènes utilisés sont des PSA recombinants. Les objectifs des recherches menées sont multiples :

- Développer un vaccin humain contre la plupart voire toutes les espèces de *Leishmania* causant les plus sévères leishmanioses dans le monde, avec le souhait d'un unique vaccin contre les différents phénotypes existants (leishmanioses viscérale, cutanée, cutanéomuqueuse).
- Produire des vaccins faciles à fabriquer et adaptées à la vaccination humaine.
- Elaborer des techniques et méthodes nécessaires à l'étude des réponses immunitaires et au suivi de l'efficacité d'un candidat vaccin chez l'Homme (RAPSODI).

**PARTIE B : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE : ENQUETE MENE  
AUPRES DES VETERINAIRES ET PROPRIETAIRES DE CHIENS EN  
ZONE D'ENZOOTIE SUR LE TERRITOIRE DE FRANCE  
METROPOLITAINE.**

# I. OBJECTIFS DE L'ENQUETE

## 1. Objectifs personnels

Comme nous l'avons vu précédemment, la leishmaniose canine gagne du terrain en Europe (notamment en France), et ce malgré les moyens de lutte mis en œuvre. En tant que maladie zoonotique dont l'hôte réservoir est surnommé, non sans raison, le « meilleur ami de l'Homme », son impact sur la santé humaine n'est pas négligeable.

La vaccination est un moyen de lutte innovant qui découle des progrès faits dans la compréhension des mécanismes immunitaires mis en jeu lors de leishmaniose. Elle ne se substitue pas aux autres moyens de prévention, mais les complète. Son but est de réduire le réservoir canin en favorisant le développement d'une réponse immunitaire efficace contre le parasite en cas d'inoculation.

Canileish® est le fruit d'années de réflexion et d'essais qui ont conduit à l'élaboration d'un vaccin de composition innovante, et dont la conception offre des perspectives intéressantes pour l'élaboration future de vaccins humains.

A l'enthousiasme que peuvent engendrer la mise au point d'une nouvelle formule ou d'un nouveau concept, à l'impatience d'en apprécier l'efficacité sur le terrain, se heurte la réalité de la mise sur le marché. La perception du produit par les différents acteurs de ce marché est primordiale, et doit être la meilleure possible afin d'en assurer la pérennité. Cela est encore plus vrai dans le cas d'un vaccin, dont l'efficacité se mesure au long terme et à l'échelle d'une population. Ses propriétés intrinsèques, aussi brillantes soient-elles, seront sans effet si, pour une raison ou pour une autre, les populations ne l'utilisent pas. Pour illustrer cela, prenons l'exemple de la rougeole, maladie à réservoir exclusivement humain contre laquelle il existe un vaccin efficace. Alors que, selon les estimations de l'INPES et du ministère de la Santé, une couverture vaccinale de 95% permettrait d'enrayer la maladie, trois vagues épidémiques ont secoué la France entre 2008 et 2011. En cause : une couverture vaccinale insuffisante, en particulier chez les enfants et jeunes adultes, catégories les plus touchées avec les nourrissons de moins de un an. En 2010, parmi les cas de rougeole recensés, 86% n'étaient pas vaccinés, 11% n'avaient reçu qu'une dose vaccinale sur les deux préconisées, et 3% étaient correctement vaccinés. L'INPES et le ministère de la Santé ont donc lancé une campagne d'information massive dès le mois d'octobre 2011 ([INPES, 2011](#)).

Canileish® doit faire ses preuves auprès de deux types de publics. En premier lieu, un public averti, les vétérinaires : ils connaissent la leishmaniose canine, y sont plus ou moins fréquemment confrontés au cours de leur pratique, connaissent sa physiopathologie et peuvent s'interroger sur le mode d'action d'un vaccin. En second lieu, un public plus vaste, celui des propriétaires de chiens. Ils ont peut-être déjà été confrontés à cette maladie par l'intermédiaire de leur animal, ils connaissent peut-être sa gravité et recherchent simplement un ou des moyens de protection efficaces. Par « efficaces », entendons également « simples », « abordables », et « faciles d'utilisation ».

Ces deux types de public sont différents mais interagissent étroitement. D'un côté, le vétérinaire reçoit des informations, les transmet, propose, et réalise ce qui lui est demandé. De l'autre, le propriétaire pose les questions, analyse les réponses, et prend la décision finale de vacciner ou pas.

Le rôle du laboratoire est donc en premier lieu d'informer, de répondre aux attentes supposées, mais aussi de réagir face aux nouvelles attentes formulées, afin de maintenir le produit sur le marché et être assuré de pouvoir un jour en mesurer les effets à grande échelle et sur le long terme.

Nous nous sommes donc interrogés sur cet aspect-là : quelle est la perception de Canileish®, par les vétérinaires d'une part, et les propriétaires de chiens d'autre part ? Quels sont les premiers retours, près d'un an après sa mise sur le marché ? Les propriétaires sont-ils à

première vue satisfaits ? L'information a-t-elle été suffisante ? Le protocole vaccinal et le coût de la vaccination sont-ils adaptés ? Et plus généralement : connaissent-ils la leishmaniose canine ? Mettent-ils déjà en œuvre des moyens de prévention ? Quant aux vétérinaires : que pensent-ils de ce vaccin ? Le proposent-ils à leurs clients ? Les questionnaires proposés ont été rédigés en regroupant et en détaillant ces points-clé.

Dans l'étude proposée, il n'est bien sûr pas question de tenter d'évaluer l'efficacité de Canileish® sur le terrain. Il est bien trop tôt pour cela, et des études ultérieures se chargeront certainement de le faire lorsque les données le permettront.

## 2. Une enquête qui s'inscrit dans une stratégie globale de communication et de sensibilisation

Le laboratoire Virbac a réalisé des études européennes avant le lancement du vaccin Canileish® afin de mieux cerner les attentes et les besoins des vétérinaires et des propriétaires de chiens, et ainsi d'optimiser la campagne de communication. (VIRBAC, 2011).

Les résultats fournis par le laboratoire indiquent que les propriétaires de chiens européens considèrent la leishmaniose comme une maladie mortelle de gravité comparable à celle de la rage. 72% en moyenne ont déjà entendu parler de la leishmaniose, et leur principale source d'information est le vétérinaire. La plupart savent que cette maladie se transmet par un « moustique ». Seulement la moitié des propriétaires interrogés déclarent utiliser des produits de protection spécifiques de la leishmaniose. Ils sont plutôt satisfaits de ces produits, même s'ils savent qu'ils ne sont pas efficaces à 100%. Plus de 75% sont prêts à vacciner leur(s) chien(s) contre la leishmaniose, tout en souhaitant le moins d'effets secondaires possibles et un prix abordable. En France, 16% des propriétaires de chiens ont entendu parler de Canileish® avant son lancement.

Les vétérinaires attendent également beaucoup de ce vaccin.

Les outils de communication développés, au Portugal et en France en particulier, sont multimodaux et adaptés au public visé (**tableau 8**).

Vétérinaires	Propriétaires
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colloques de lancement.</li> <li>- Séminaires techniques.</li> <li>- Conférences dans les écoles vétérinaires (ENVT, 2012).</li> <li>- Publicités/publications dans la presse vétérinaire (<b>annexe 3</b>).</li> <li>- Documentation sur demande.</li> <li>- Section vétérinaire du site Virbac.</li> <li>- Présentation en clinique.</li> <li>- Centre d'appel pour vétérinaires.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Publicités/articles dans la presse animale et générale (<b>annexe 1</b>).</li> <li>- Publicité chez les vétérinaires : affiches, brochures... (<b>annexe 2</b>).</li> <li>- Panneaux publicitaires de sensibilisation à la maladie.</li> <li>- Livret de vaccination.</li> <li>- Site Virbac, section propriétaires.</li> </ul>

**Tableau 8 : Activités de lancement et de communication du laboratoire Virbac pour le vaccin Canileish® : données Portugal et France (source : VIRBAC, 2011, données personnelles).**

Les objectifs de cette campagne de communication sont multiples. Du côté des vétérinaires, il s'agit de les informer et de les former au produit. Pour les propriétaires, il faut tout d'abord les sensibiliser au risque de leishmaniose canine, puis les informer sur la nouvelle forme de protection apportée. Une fois leur curiosité suscitée, le vétérinaire doit être positionné comme le référent qui répondra à leurs questions (VIRBAC, 2011).



Notre enquête s'inscrit dans la logique des études précédemment mises en œuvre par le laboratoire. Bien sur, les résultats ne seront pas directement comparables puisque le territoire échantillonné est beaucoup plus restreint. Notre but est de mettre en évidence la perception de ce vaccin quelques mois après sa mise sur le marché français, dans la zone géographique où il est le plus utile (zone d'endémie). Il s'agit également de déterminer si les objectifs de communication précédemment cités sont atteints. Certaines questions de l'enquête sont spécialement tournées dans ce sens.

Cette étude ne s'intéresse pas à l'efficacité de Canileish®, qu'il sera nécessaire d'évaluer par des méthodes différentes en laissant s'écouler un délai plus long.

## II. MATERIELS ET METHODES

### 1. Les questionnaires

Dès janvier 2012, nous avons présenté l'idée de l'enquête et les ébauches de questionnaires au laboratoire Virbac, qui commercialise le vaccin Canileish®. Il s'agissait d'une part de savoir si une enquête similaire n'était pas déjà en cours, d'autre part d'obtenir un éventuel soutien, notamment financier. Le laboratoire s'est montré intéressé. Les versions finales de deux questionnaires lui ont été envoyées en mai 2012 : un premier questionnaire destiné aux vétérinaires (ayant une activité canine), le second destiné aux propriétaires de chiens.

#### *a. Questionnaire destiné aux vétérinaires ayant une activité canine*

Nous avons envoyé un seul questionnaire par structure vétérinaire contactée, en supposant donc que le vétérinaire qui le remplirait serait celui qui se sentirait le plus concerné par le thème de l'étude.

Ce questionnaire se compose de 4 parties (**annexe 4**).

La première rassemble des informations générales permettant de :

- situer la structure.
- estimer sa taille.
- connaître les impressions du vétérinaire concernant la prévalence de la leishmaniose et les moyens de prévention qu'il recommande à ses clients.

La seconde partie, intitulée « le vaccin contre la leishmaniose », s'intéresse à l'opinion du vétérinaire concernant ce vaccin.

La troisième, intitulée « votre communication avec les propriétaires », interroge le vétérinaire sur les moyens mis en place pour informer ses clients, et les réactions de ces derniers (elle fait donc un parallèle avec les questionnaires destinés aux propriétaires).

Enfin, la dernière partie concerne les principaux aspects de la vaccination pratiquée par le vétérinaire.

L'intitulé du questionnaire précise bien que « les informations demandées sont relatives à l'activité du vétérinaire et non celle de la clinique ». En effet, les questions font appel à l'expérience et à l'opinion personnelles du vétérinaire qui répond.

#### *b. Questionnaire destiné aux propriétaires de chiens*

Ce questionnaire, anonyme, est destiné à tout propriétaire de chien présent dans la salle d'attente du vétérinaire, quel que soit le motif de consultation.

Il se compose de 3 parties (**annexe 5**).

La première regroupe des informations générales, en particulier le nombre de chiens détenus. La seconde partie est intitulée « votre mode de vie ». Elle permet de faire le point sur les moyens de prévention de la leishmaniose mis en place par le propriétaire, en dehors de la vaccination.

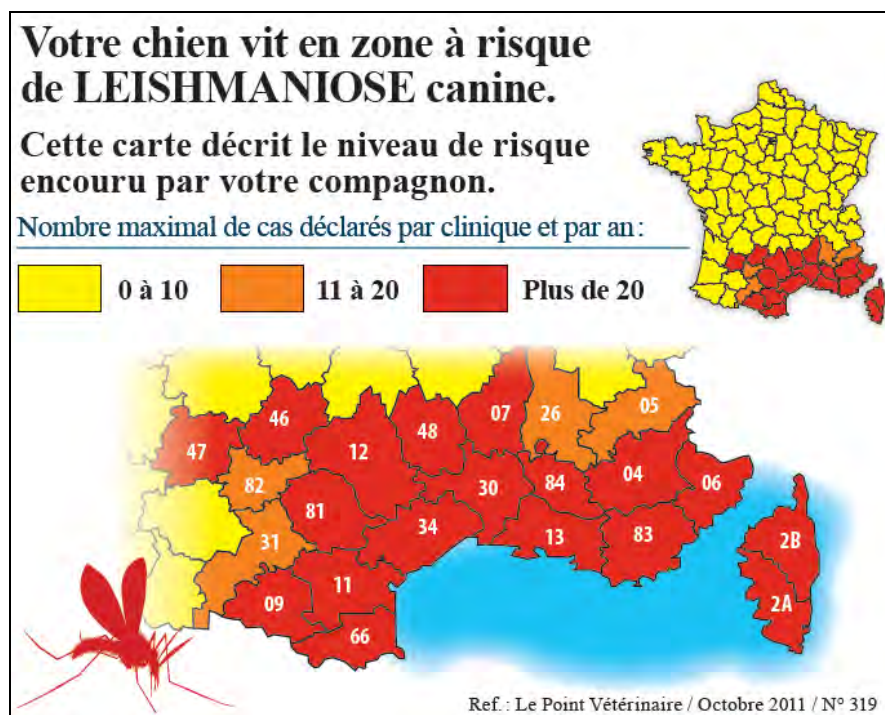
La troisième, intitulée « le vaccin contre la leishmaniose », aborde la position du propriétaire par rapport au vaccin contre la leishmaniose : la manière dont il a reçu l'information, ses premières impressions, son désir de faire vacciner son ou ses chiens, son ressenti suite à une éventuelle première expérience de vaccination.

## 2. Collecte des données

### a. Territoire ciblé

Le choix du territoire-cible a été fait en se basant sur la carte publiée en 2011 par l'unité DPM (Dermatologie, Parasitologie et Mycologie) d'Oniris, qui représente la répartition de la leishmaniose en France (**carte 12**). Cette carte met en évidence une zone d'endémie de leishmaniose canine localisée au sud-ouest de la France avec une extension progressive vers les départements plus à l'est (par comparaison avec les cartes réalisées en 1988 et 2004).

Nous avons sélectionné, sur la carte pré-citée, les 22 départements dans lesquels, en 2011, au moins une clinique a observé 11 cas ou plus de leishmaniose (**cartes 11 et 12**).



Carte 12: Carte ayant servi de base pour la sélection de la zone d'échantillonnage (source : [VIRBAC, 2013](#))

### b. Méthode d'échantillonnage

Les études épidémiologiques à grande échelle comme celle-ci sont rarement réalisées sur une population totale, mais plutôt sur des échantillons de population. Ceci permet de

simplifier les procédures, limiter les coûts et la main d'œuvre utilisée. L'enjeu principal est alors de choisir un échantillon représentatif de la population-cible que l'on veut étudier. La démarche adoptée pour la mise au point de notre méthode d'échantillonnage est ici développée.

#### α. Quelques définitions

On appelle **population cible** celle qui a motivé l'organisation de l'enquête, celle à laquelle on souhaite pouvoir étendre les résultats obtenus.

De cette population cible est extraite une **population source**, population réellement étudiée, à partir de laquelle sera réalisé l'échantillonnage. Les qualités de l'**échantillon** doivent le rendre représentatif de la population cible, afin de pouvoir extrapoler les informations collectées lors de l'enquête à l'échelle de la population (**schéma 13**).

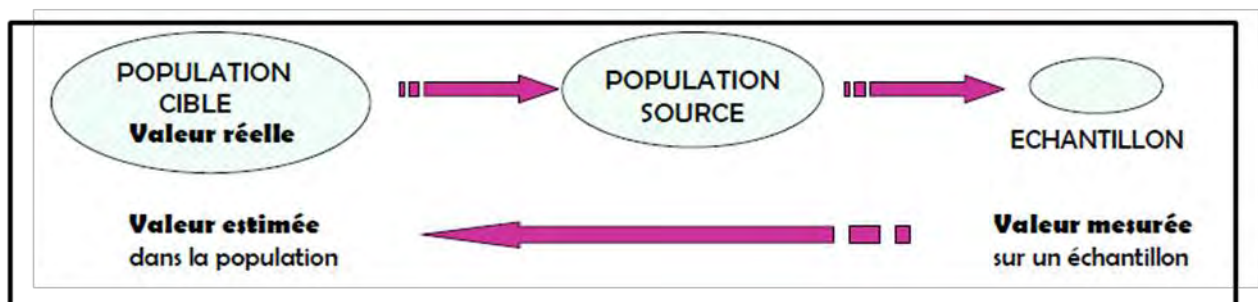


Schéma 13 : Rôle de l'échantillonnage dans l'enquête épidémiologique (source : [TREVENNEC, 2009](#))

#### β. Premières cibles de l'enquête : les vétérinaires

Dans cette enquête, la **première unité d'échantillonnage** est le vétérinaire, et non la structure dans laquelle il travaille, comme expliqué plus haut.

La **population cible** correspond à l'ensemble des vétérinaires pratiquant une activité canine (c'est-à-dire les vétérinaires pour animaux de compagnie et les vétérinaires mixtes) dans la zone française d'endémie de leishmaniose (les 22 départements du sud de la France selon l'étude de Gilles Bourdoiseau).

La **population source** est ici superposable à la population cible.

L'idée de départ était de réaliser un échantillonnage aléatoire à plusieurs degrés à partir de la liste de structures vétérinaires fournie par l'annuaire ROY 2011. Dans un premier temps, nous en aurions tiré au sort un nombre défini parmi celles présentes dans les 22 départements précités, en excluant l'ENVT. L'envoi d'un seul questionnaire par structure aurait ensuite permis d'introduire un second degré d'échantillonnage, totalement aléatoire mais indépendant de notre volonté, par le choix du vétérinaire qui le remplirait.

Cependant, le laboratoire Virbac, en charge des envois, a opté pour une autre méthode concernant le premier degré d'échantillonnage. Il dispose d'un listing informatisé des structures vétérinaires présentes sur le territoire français. Il a donc pris pour population source les cabinets et cliniques vétérinaires de cette liste présents dans les 22 départements imposés par l'étude. Il en a ensuite sélectionné 600, de manière empirique, et selon les critères suivants :

- Les 300 plus grosses structures consommatrices de CaniLeish®.
- Les 300 plus grosses structures en termes de chiffre d'affaires et nombre de vétérinaires (exclues les 300 structures déjà sélectionnées comme étant les plus grosses consommatrices de CaniLeish®).

Ce choix a nécessairement été pris en compte dans la manière d'exploiter et d'interpréter les données obtenues, comme nous le verrons plus loin.

Le second degré d'échantillonnage, indépendant de la volonté de l'expéditeur, n'a quant à lui pas changé.

La méthode utilisée est représentée sur le **schéma 13**.

#### γ. Secondes cibles de l'enquête : les propriétaires de chiens

La seconde unité d'échantillonnage est le propriétaire de chien. La méthode d'échantillonnage à plusieurs degrés est identique à celle utilisée pour les vétérinaires. Ainsi, 20 questionnaires clients ont été envoyés à chacune des 600 structures vétérinaires sélectionnées. Ils ont été distribués par les vétérinaires ou leurs ASV, à tout propriétaire de chien devant patienter dans la salle d'attente, quel que soit le motif de consultation (**schéma 14**).

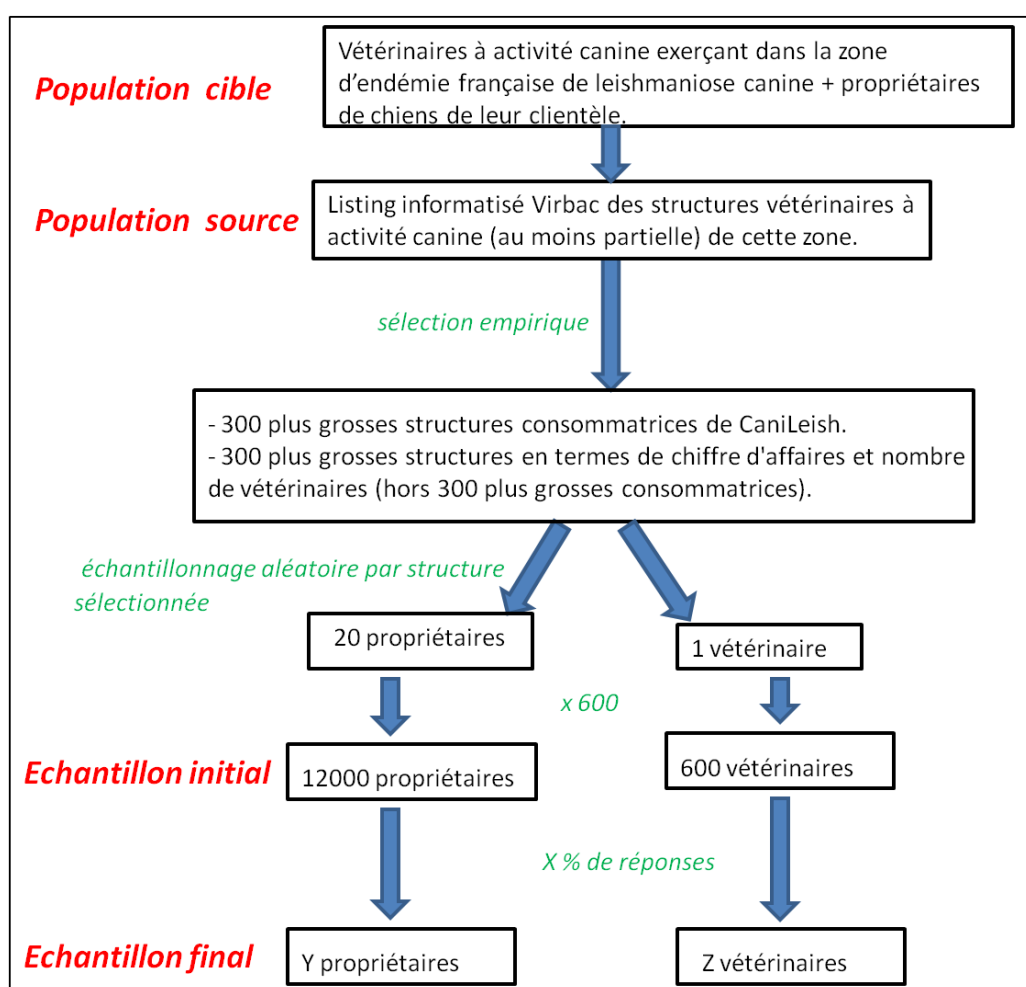


Schéma 14 : Méthode d'échantillonnage théorique de notre enquête.

#### δ. Bilan

L'**échantillon** initial est donc de 600 vétérinaires et 12 000 propriétaires de chiens. L'échantillon final est le nombre de questionnaires reçus. En pratique, dans notre cas, il ne dépend pas seulement du pourcentage de réponses (c'est-à-dire enveloppes renvoyées). En effet, comme il sera détaillé plus tard, certaines cliniques ont renvoyé plusieurs questionnaires

vétérinaires (photocopies), d'autres au contraire ne l'ont pas renvoyé. Beaucoup n'ont pas renvoyé la totalité des questionnaires clients, certaines ne les ont pas renvoyés du tout.

### *c. Processus de collecte*

A chacune des 600 structures vétérinaires échantillonnées a été envoyée, dès fin juillet 2012, une enveloppe contenant :

- 1 questionnaire vétérinaire, à remplir par l'un des vétérinaires pratiquant une activité canine (partielle ou totale).
- 20 questionnaires à distribuer aux clients propriétaires de chiens de la structure.
- 1 lettre d'accompagnement présentant l'objet de l'étude.
- 1 enveloppe « T » de retour pré-adressée au service d'immunologie de l'ENVT.

La date limite de retour a été fixée à fin janvier 2013, soit six mois après envoi des questionnaires.

Un premier bilan faisant état d'un nombre insuffisant de réponses, il a été décidé d'envoyer un mail de relance à la mi-septembre 2012. Un dernier mail de relance a été envoyé fin janvier 2013, soit une dizaine de jours avant la date limite théorique de renvoi des questionnaires.

## **3. Analyse des données**

L'ensemble des réponses a été lu, compilé manuellement et interprété graphiquement grâce au tableur Excel. Trois fichiers ont été créés : un fichier « données générales », un fichier vétérinaire et un fichier propriétaire.

### *a. Fichier « données générales »*

Il consiste principalement en un tableau indiquant, par département et par région, le nombre de réponses reçues, et leur nature (c'est-à-dire le nombre de questionnaires vétérinaires et propriétaires réellement renvoyés, sachant que les réponses étaient rarement complètes). Il rassemble également des remarques générales déduites de l'analyse des questionnaires.

### *b. Fichier « propriétaires »*

Les questionnaires propriétaires ont tous été analysés sur une même feuille Excel, sans aucune distinction.

### *c. Fichier « vétérinaires »*

L'exploitation des questionnaires vétérinaires a été plus complexe car nous devons prendre en compte le biais d'échantillonnage décrit ci-dessus. Pour cela, nous avons tout d'abord séparé les réponses en 2 feuilles distinctes :

- Les réponses provenant des structures faisant partie des 300 plus grosses consommatrices de Canileish®.
- Les réponses provenant des structures les plus grosses (hors 300 plus grosses consommatrices de Canileish® (voir B.II.2.b.β).

Puis nous créons une autre feuille sur laquelle nous avons regroupé toutes les réponses. Ceci nous a permis d'analyser les données globalement puis par catégorie, afin d'estimer l'impact du biais.

Parmi les questionnaires vétérinaires retournés, deux structures n'ont pas pu être identifiées, soit parce que leur nom n'a pas été donné, soit parce qu'il n'était pas lisible. Il n'a donc pas été possible de les repérer dans le listing, et donc de savoir à quelle catégorie elles appartenaient. Nous avons décidé de **retirer ces deux questionnaires de l'échantillonnage vétérinaire**. Ils apparaissent cependant dans les données générales car leur département d'origine est connu. Les questionnaires propriétaires associés, non soumis à des catégories, ont été comptabilisés normalement.

Par souci de simplification pour la suite, nous utilisons parfois des expressions abrégées : « gros consommateurs » pour la première catégorie, « grosses cliniques » pour la seconde. Ces simplifications sous-entendent la description fournie au paragraphe B.II.b.β.

### III. RESULTATS

#### 1. Réponses

##### *a. Tendances générales*

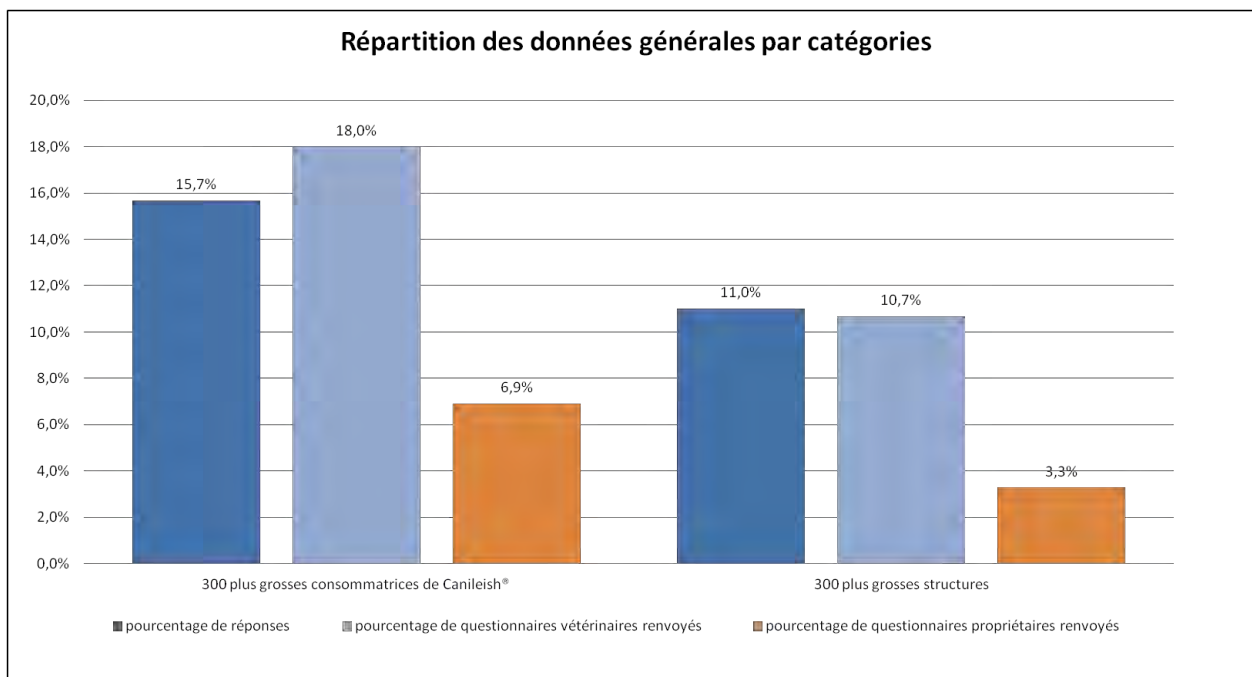
Sur 600 enveloppes envoyées, 83 nous ont été retournées, soit 13,8%. Mais le contenu de ces dernières n'était pas homogène. Elles pouvaient ainsi contenir :

- Le questionnaire vétérinaire et l'ensemble des questionnaires clients remplis (5 soit 6,0% des réponses).
- Le questionnaire vétérinaire et quelques questionnaires clients remplis (46 soit 55,4% des réponses).
- Le questionnaire vétérinaire seul rempli (24 soit 28,9% des réponses).
- Plusieurs questionnaires vétérinaires ainsi que l'intégralité des questionnaires clients remplis (2 soit 2,4% des réponses).
- Plusieurs questionnaires vétérinaires (photocopies) et quelques questionnaires clients remplis (3 soit 3,6% des réponses).
- Quelques questionnaires clients remplis mais pas le questionnaire vétérinaire (2 soit 2,4% des réponses).
- Rien du tout (1 soit 1,2% des réponses).

Ceci complexifie quelque peu la méthode d'obtention de l'échantillon final théorique décrite sur le **schéma 13**. Les 83 enveloppes retournées ont permis de rassembler 88 questionnaires vétérinaires sur les 600 envoyés (dont 86 analysés et 2 rejetés) et 614 questionnaires clients sur les 12 000 envoyés, soit des pourcentages de réponse de 14,7% et 5,1% respectivement.

##### *b. Distinction des réponses*

###### *α. Par catégories*



**Graphique 3 : Répartition des données générales par catégorie.**

Les données présentées sur le **graphique 3** sont détaillées en **annexe 7**.

Statistiquement parlant :

En termes de pourcentage de réponses, il n'y a pas de différence significative entre les 300 structures grosses consommatrices de Canileish® et les autres (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 2,83$  et p-value = 0,093 pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).

Les 300 grosses consommatrices ont renvoyé un nombre significativement plus important de questionnaires vétérinaires ( $X^2 = 6,57$  et p-value = 0,010 pour  $\alpha = 0,05$  et ddl = 1) et de questionnaires propriétaires ( $X^2 = 81,20$  et p-value =  $2,037 \cdot 10^{-19}$  pour  $\alpha = 0,05$  et ddl = 1).

### β. Par département et par région

Le taux de réponse par département peut aller de 0% (Aveyron, Lot, Tarn-et-Garonne, c'est-à-dire 3 départements de la région Midi-Pyrénées) à 100% en Lozère (sur 1 seule structure vétérinaire contactée).

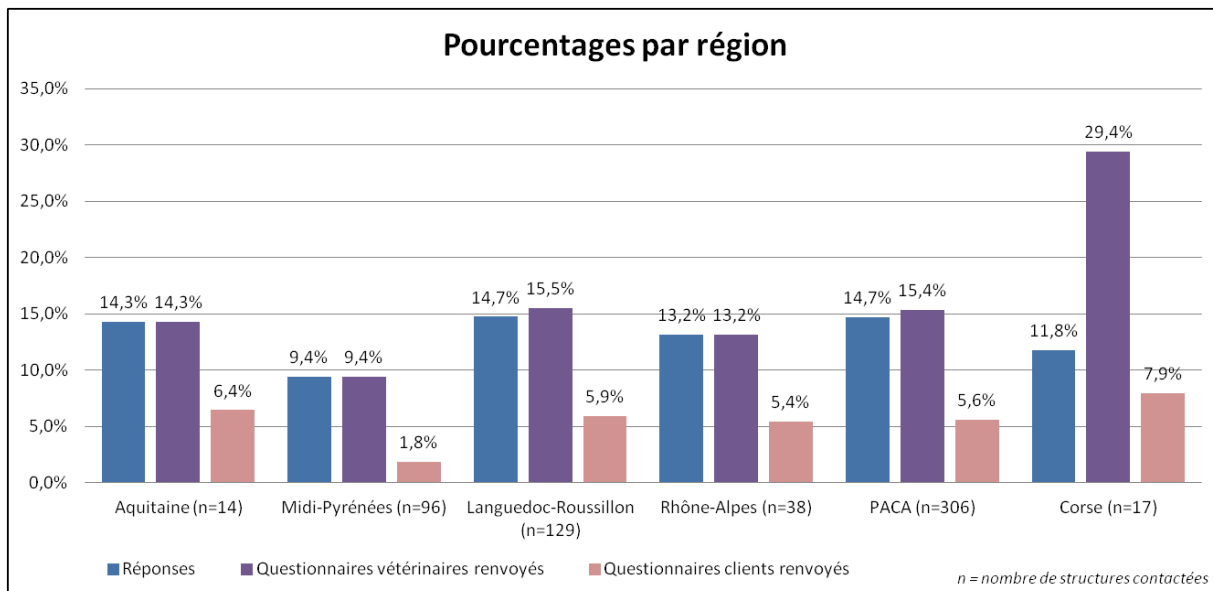
Le taux de renvoi du questionnaire vétérinaire suit logiquement les mêmes extrêmes.

Concernant les renvois de questionnaires propriétaires, les minima ont été enregistrés dans 3 départements de Midi-Pyrénées (0% pour l'Aveyron, le Lot et le Tarn-et-Garonne) et 1 département du Languedoc-Roussillon (0% pour la Lozère). Le maximum est noté en Ariège (Midi-Pyrénées) avec 13,6% de questionnaires propriétaires renvoyés (**annexe 8A**).

Le **graphique 4** représente les tendances par région. Les pourcentages de renvois sont globalement faibles.

La région Midi-Pyrénées concentre les minima, en termes de nombre et de composition des enveloppes renvoyées. Le Languedoc-Roussillon et PACA ont renvoyé le plus d'enveloppes, mais c'est la Corse qui les a le mieux remplies.

Les régions Languedoc-Roussillon, PACA et Corse se distinguent par un nombre de questionnaires vétérinaires renvoyés supérieur au nombre qui leur a été envoyé (**annexe 8B**).



Graphique 4 : Pourcentages des types de réponses par région.

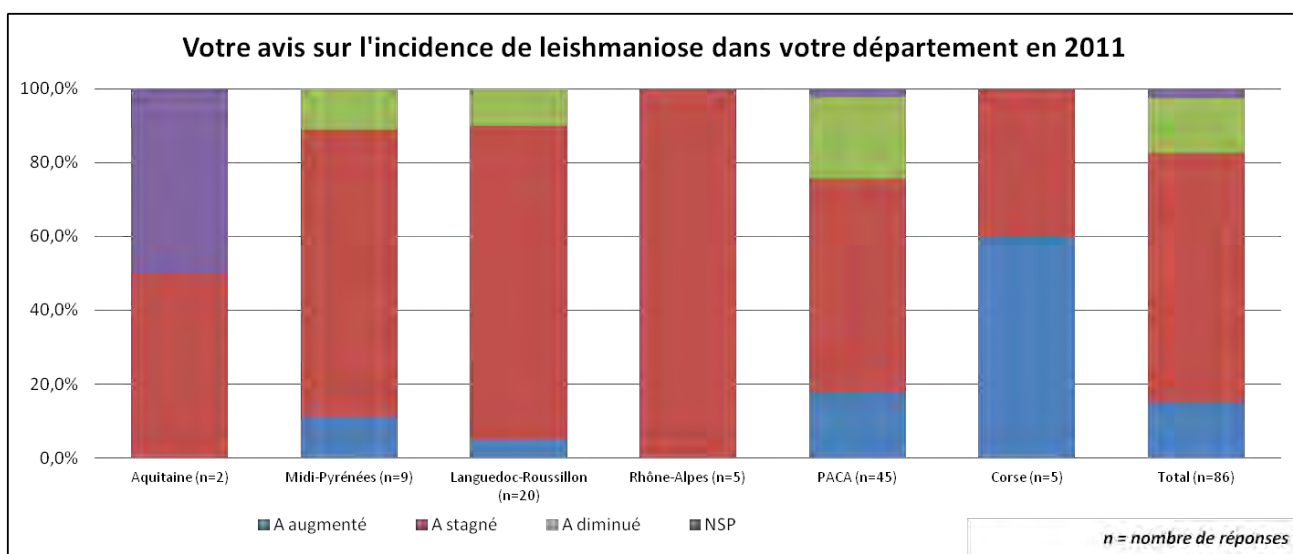
## 2. Perception de Canileish® par les vétérinaires

### a. Activité des vétérinaires interrogés

77,9 % des vétérinaires interrogés ont une activité canine, 22,1% ont une activité mixte. 3,5% ont une activité complémentaire (NAC, équine).

### b. Avis sur l'incidence de la leishmaniose en 2011

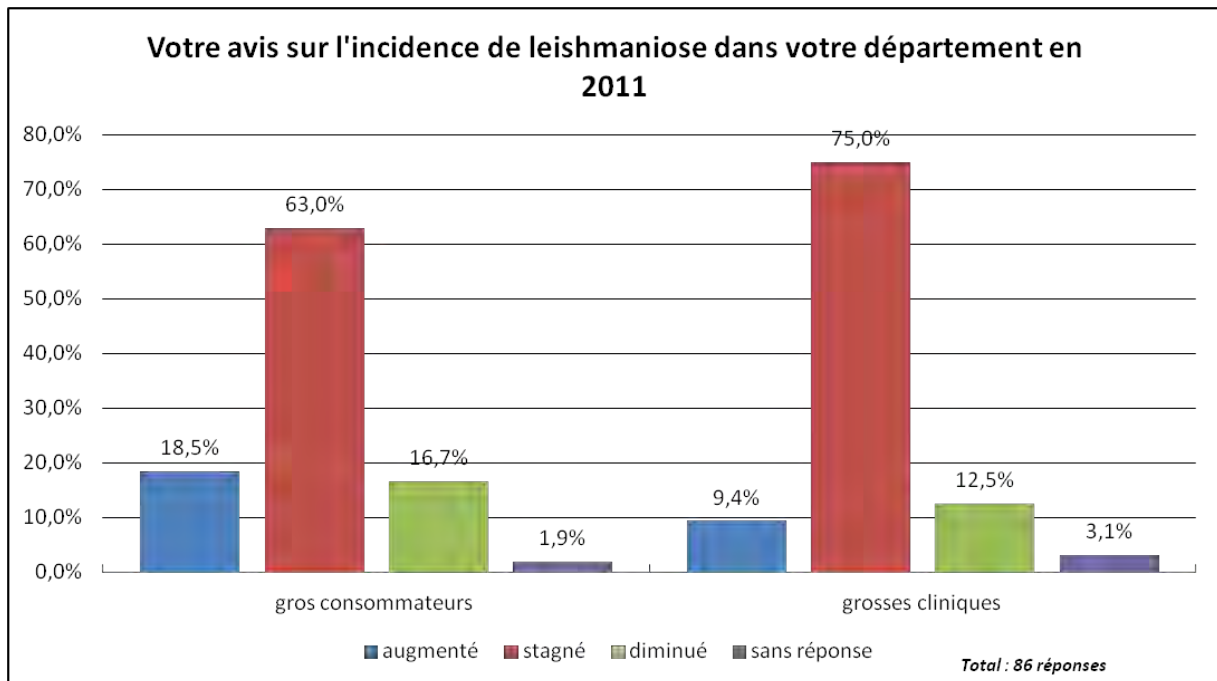
De manière générale, la majorité des praticiens ont l'impression que l'incidence de leishmaniose a stagné en 2011 dans leur département d'exercice (67,4% des réponses). Cette tendance se retrouve au niveau régional (de 50 à 100% des opinions) mis à part en Corse, où 60% des vétérinaires pensent que cette incidence a augmenté : **graphique 5**. Ces données sont cependant à relativiser car le nombre de réponses par région est très inégal.



Graphique 5 : Avis des vétérinaire sur l'incidence de leishmaniose dans leur département d'exercice en 2011 : tendances régionales.



La répartition des opinions par catégories est assez parlante, puisque la stagnation est également prépondérante. Il n'y a pas de différence significative entre l'opinion des gros consommateurs de Canileish® et celle des autres (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 1,915$  et p-value = 0,590 pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 3) : **graphique 6**.

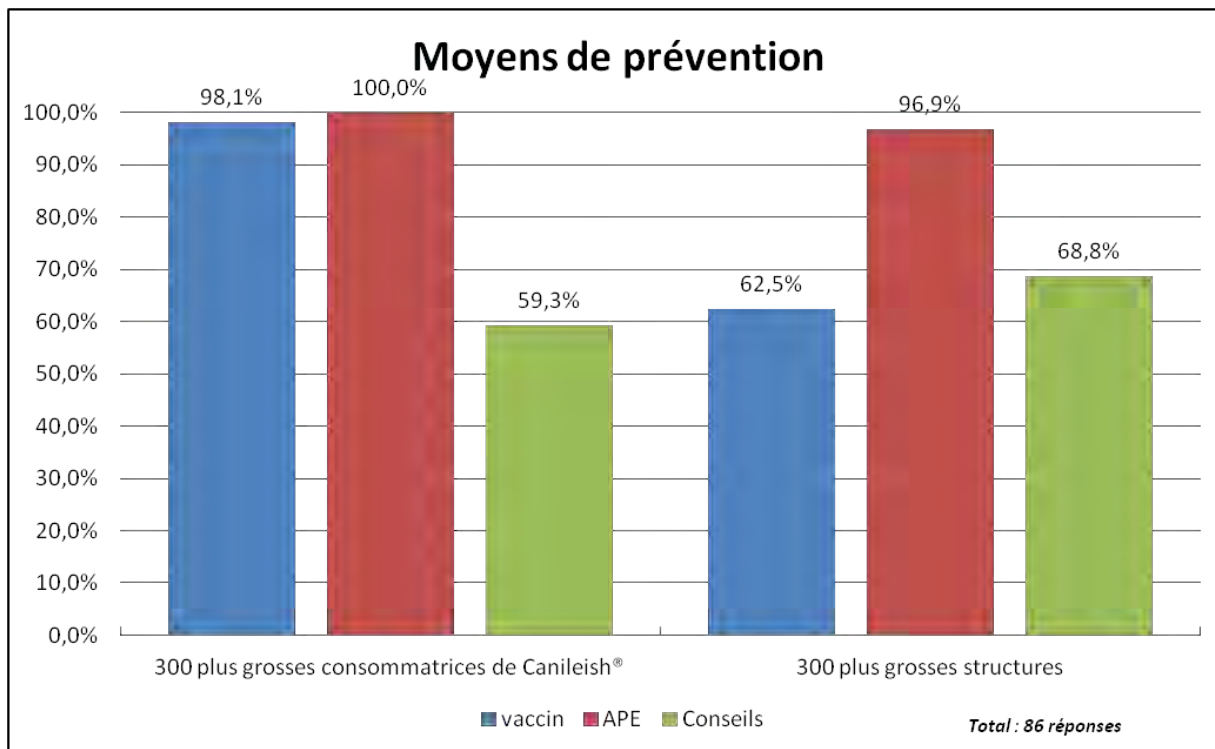


**Graphique 6 : Avis des vétérinaires sur l'incidence de leishmaniose dans leur département d'exercice en 2011 : tendances par catégories.**

### *c. Moyens de prévention recommandés aux propriétaires de chiens*

Parmi les recommandations faites par les vétérinaires à leurs clients, l'application d'anti-parasitaires externes (APE) occupe la première position (citée dans 98,8% des réponses). Arrivent ensuite la vaccination (84,9%) et les conseils sanitaires (62,8%). Cependant, des différences sont à noter selon la catégorie à laquelle appartient le vétérinaire interrogé.

Ainsi, le vaccin est évoqué dans 98,1% des réponses des « gros consommateurs de Canileish® », contre 62,5% des réponses pour les autres. Cette différence est significative (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 19,89$  et p-value =  $8,16 \times 10^{-6}$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1). En revanche, pas de différence significative pour les antiparasitaires externes (cités par 100% des gros consommateurs de Canileish® et 98,8% des autres vétérinaires) et les conseils sanitaires (cités par 59,3% des gros consommateurs de Canileish® et 68,8% des autres vétérinaires) : **graphique 7**.



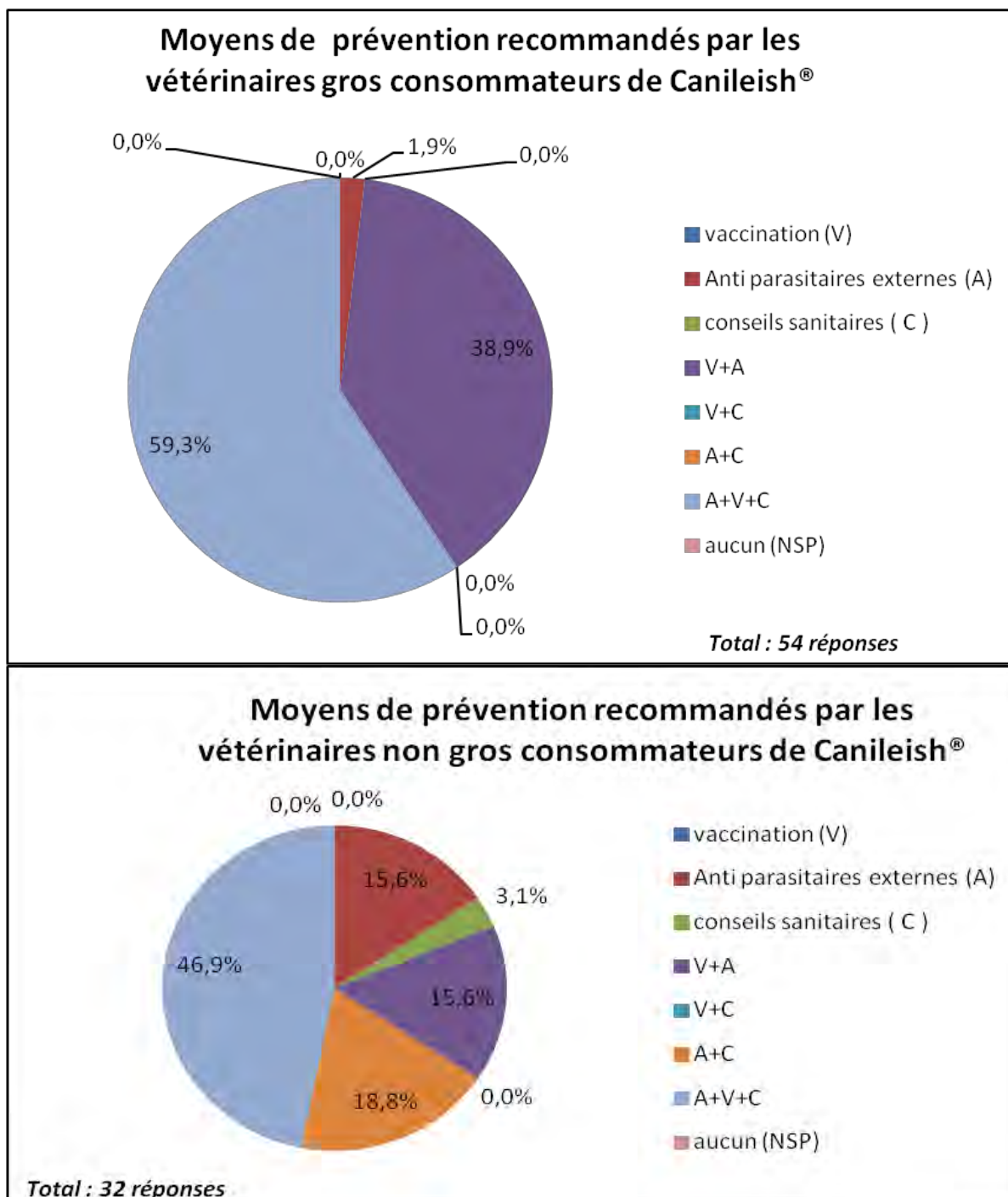
**Graphique 7 : Place des différents moyens de prévention dans les recommandations contre la leishmaniose faites par les vétérinaires.**

59,3% des vétérinaires gros consommateurs de Canileish® associent anti-parasitaires externes (APE), vaccination et conseils sanitaires dans leurs recommandations dans la lutte contre la leishmaniose canine. 38,9% recommandent seulement la vaccination et les APE. Enfin, 1,9% seulement recommandent seulement un traitement APE.

Les vétérinaires non gros consommateurs de Canileish® sont plus partagés : 46,9% recommandent vaccination, APE et donnent des conseils sanitaires (différence non significative avec la première catégorie : test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 1,244$  et  $p\text{-value} = 0,265$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un  $ddl = 1$ ). Loin derrière mais côte à côte arrivent les associations APE + conseils (18,8%), APE + vaccin (15,6%) et APE seuls (15,6%). Seuls 3,1% ne donnent que des conseils (**graphique 8**).

D'une manière générale, il en ressort que les vétérinaires s'appuient sur une gestion multimodale du risque de leishmaniose canine : l'association APE, vaccination et conseils sanitaires arrive en premier dans les réponses fournies, quelle que soit la catégorie à laquelle appartient le vétérinaire.

Les APE apparaissent indispensables dans la prévention. La vaccination occupe d'ores et déjà une place importante, puisque plus de 1 vétérinaire sur 2 la recommande, quelle que soit sa catégorie. Mais elle est toujours au moins associée à un traitement APE.



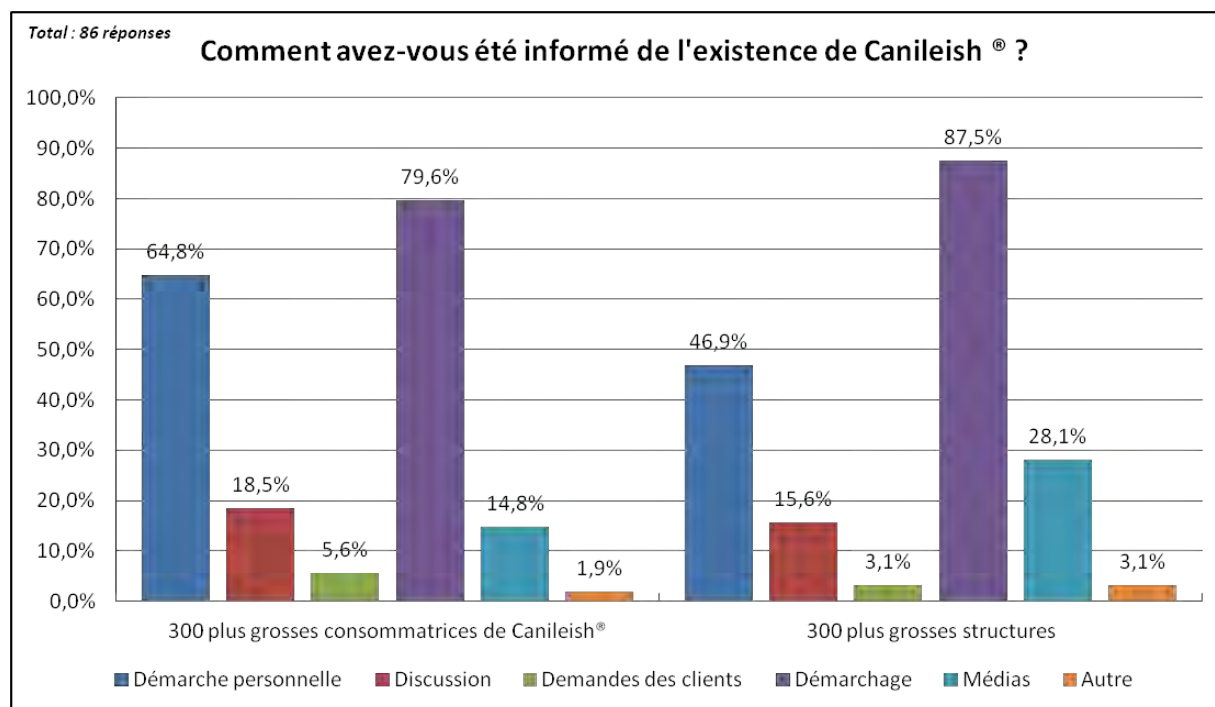
**Graphique 8 : Associations des moyens de prévention contre la leishmaniose canine.**

#### *d. Communication sur Canileish® auprès des vétérinaires*

Tous les vétérinaires interrogés ont entendu parler de Canileish®.

Parmi les moyens d'informations mis à disposition, le démarchage arrive en tête puisqu'il apparaît dans 82,6% des réponses (dont 79,6% des réponses des « gros consommateurs » et 87,5% des réponses des autres). 58,1% des praticiens affirment aussi s'être informé par démarche personnelle (64,8% des « gros consommateurs » et 46,9% des autres). L'information par le biais des médias ou des discussions arrive ensuite (19,8% et 17,4% respectivement). Très peu de praticiens ont été informés de l'existence du vaccin par leurs clients (4,7%). Enfin, deux confrères (2,3%) affirment avoir également appris sur le

vaccin en participant à une étude de terrain mise en oeuvre par le laboratoire Virbac. Le **graphique 9** présente les résultats par catégories.



**Graphique 9 : Moyens d'information des vétérinaires sur le produit Canileish®.**

Nous avons ensuite demandé à nos confrères s'ils considèrent être assez informés sur le vaccin. La réponse est clairement « oui » (83,7% des réponses, dont 77,8% des « gros consommateurs » et 93,8% des autres). 14% répondent « non » (18,5% des « gros consommateurs » et 6,3% des autres). Enfin, 2,3% des interrogés ne se prononcent pas sur la question. La répartition des réponses par catégorie ne montre pas de différence significative (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 3,964$  et  $p\text{-value} = 0,138$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 2).

Des attentes ont été formulées par l'ensemble des vétérinaires « gros consommateurs de Canileish® » ayant répondu par la négative. Ces derniers souhaitent tout d'abord avoir des informations, avec du recul, sur l'efficacité et l'innocuité du vaccin à long terme. Des considérations épidémiologiques sont aussi développées, avec des interrogations quant à la vaccination des chiens porteurs, le risque de portage sain des chiens vaccinés et son impact sur les populations humaine et canine, et la conduite à tenir lorsque le test rapide est négatif mais la clinique est en faveur, ou lorsqu'il est faiblement positif. Certains confrères souhaitent plus d'informations sur des aspects pratiques de la vaccination, En particulier, ils s'interrogent sur le temps maximal qui peut s'écouler entre deux rappels successifs, ou sur la possibilité d'injecter de plus faibles volumes aux chiens de petit format, qui sembleraient être sujets à de fortes réactions. Enfin, le manque de contact direct avec le laboratoire a été cité.

Les vétérinaires non gros consommateurs de Canileish® n'ont pas formulé d'attentes particulières.

#### *e. Opinion des vétérinaires au sujet de Canileish®*

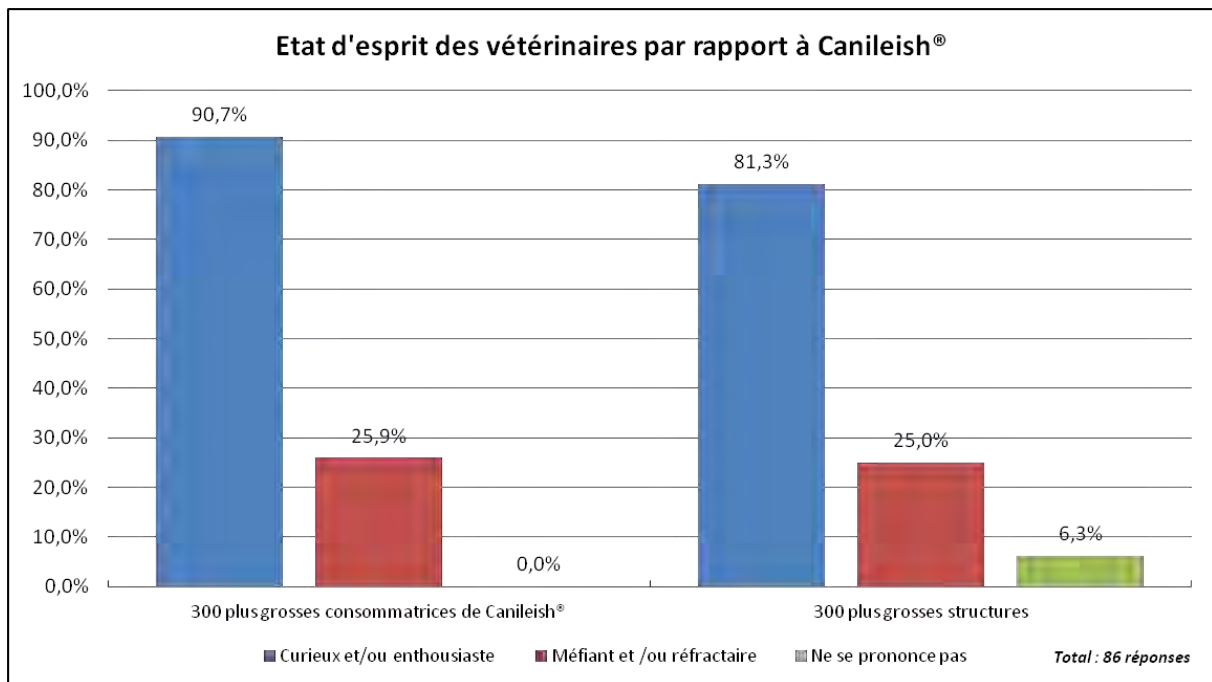
La série de questions suivantes portait sur l'état d'esprit de nos confrères vis-à-vis de ce nouveau vaccin. Nous souhaitons en premier lieu savoir s'ils étaient plutôt « curieux », « enthousiastes » (opinions favorables), « méfiants » ou « réfractaires » (opinions défavorables), tout en sachant que plusieurs réponses étaient possibles.

Afin d'obtenir une vision d'ensemble, nous avons comptabilisé les réponses comme suit :

- « curieux » et/ou « enthousiaste » coché(s) = 1 opinion favorable.
- « méfiant » et/ou « réfractaire » coché(s) = 1 opinion défavorable.

Les résultats sont présentés sur le **graphique 10**. Il apparaît que l'opinion générale est favorable (87,2% des réponses, dont 90,7% des « gros consommateurs » de Canileish® et 81,3% des autres vétérinaires). 25,6% de nos confrères émettent aussi une opinion défavorable (25,9% des « gros consommateurs » de Canileish® et 25% des autres vétérinaires). Ces valeurs indiquent aussi que certains confrères sont mitigés, ayant émis une opinion à la fois favorable et défavorable. 6,3% des praticiens non gros consommateurs du vaccin ne se sont pas prononcé.

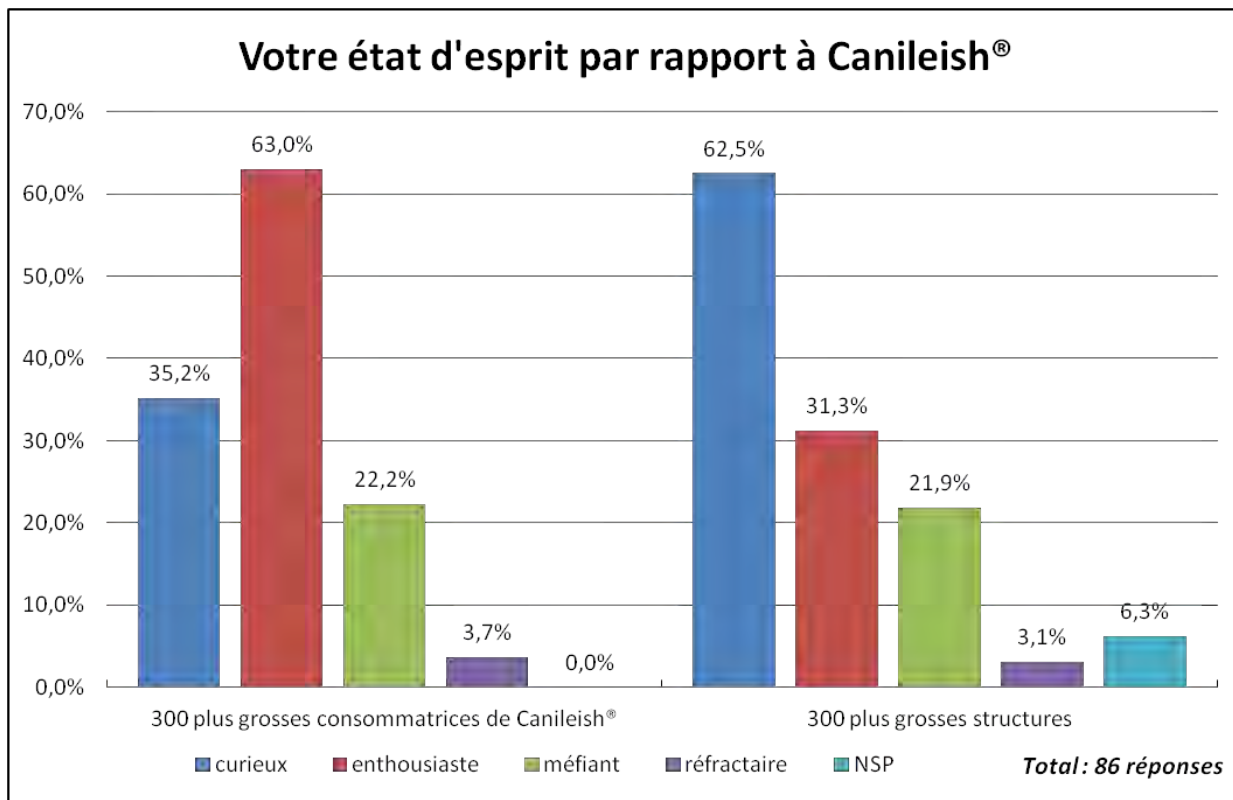
Il n'y a pas de différence significative entre l'opinion des vétérinaires gros consommateurs de Canileish® et les autres (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 3,593$  et p-value = 0,166 pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 2).



**Graphique 10 : Etat d'esprit des vétérinaires vis-à-vis de la vaccination avec Canileish®.**

Le **graphique 11** présente le détail de ces réponses.

Si l'on s'intéresse aux opinions favorables, on remarque que les vétérinaires gros consommateurs du vaccin se disent en majorité enthousiastes, alors que parmi les autres vétérinaires, c'est la curiosité qui prédomine. En revanche, dans les opinions défavorables, la méfiance prévaut quelle que soit la catégorie. Relativement peu de nos confrères se disent réellement réfractaires à la vaccination.



**Graphique 11 : Détail des opinions des vétérinaires.**

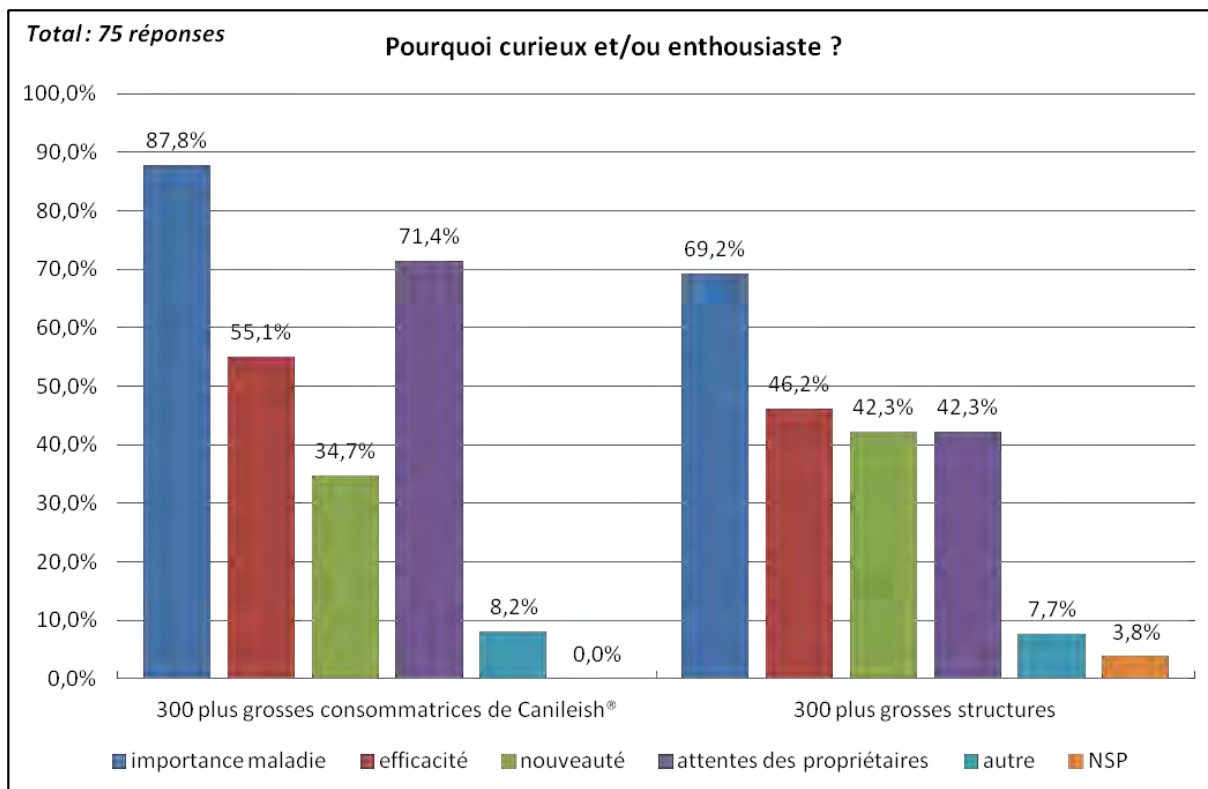
Dans un second temps, nous nous sommes attachés à savoir quels aspects de Canileish® avaient influencé la réponse précédente. Là encore, plusieurs réponses étaient possibles.

#### α. Vétérinaires curieux et/ou enthousiastes

De manière générale, l'importance de la maladie est un facteur-clé qui motive l'intérêt pour ce vaccin (citée dans 81,3% des réponses). Viennent ensuite les attentes des propriétaires (61,3%), l'efficacité du vaccin (52%) et l'attrait pour la nouveauté (37,3%). Parmi les autres motifs cités, ont été évoqués l'innocuité, l'impact sur les populations (humaine en particulier) et le prix.

Les statistiques par catégories mettent en évidence plusieurs points :

- Les vétérinaires classés comme « gros consommateurs de Canileish® » accordent plus d'importance aux attentes des propriétaires qu'à l'efficacité (71,4% et 55,1% respectivement), contrairement aux autres vétérinaires interrogés.
- L'importance de la maladie est placée en première position (citée dans 87,8% des réponses des gros consommateurs et 69,2% des réponses des autres vétérinaires) sans différence significative entre les catégories (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 3,839$  et  $p\text{-value} = 0,05$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).
- Les gros consommateurs de Canileish® accordent significativement plus de place aux attentes des propriétaires que les autres ( $X^2 = 6,074$  et  $p\text{-value} = 0,014$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).
- Les gros consommateurs de Canileish® sont significativement aussi confiants dans l'efficacité du vaccin que les autres ( $X^2 = 0,545$  et  $p\text{-value} = 0,460$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).
- La nouveauté intéresse significativement autant les gros consommateurs de Canileish® que les autres ( $X^2 = 0,421$  et  $p\text{-value} = 0,516$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1) : **graphique 12**.



Graphique 12 : Raisons motivant une opinion favorable des vétérinaires vis-à-vis de Canileish®.

### β. Vétérinaires méfiants et/ou réfractaires

De manière générale, le prix élevé est le principal élément négatif (cité dans 77,3% des réponses), suivi du doute sur l'efficacité (63,6%) et de la crainte des effets secondaires (45,5%). La réaction négative des clients n'est un frein que pour 18,2% des praticiens. Le manque d'information n'est jamais cité. Parmi les autres causes évoquées par les praticiens, nous pouvons citer :

- L'absence de cas de leishmaniose sur le territoire d'exercice.
- Un protocole de primo-vaccination compliqué et une injection séparée des autres vaccins, ce qui est mal perçu par les propriétaires puisque cela oblige à multiplier les consultations.
- La promotion faite par le laboratoire.

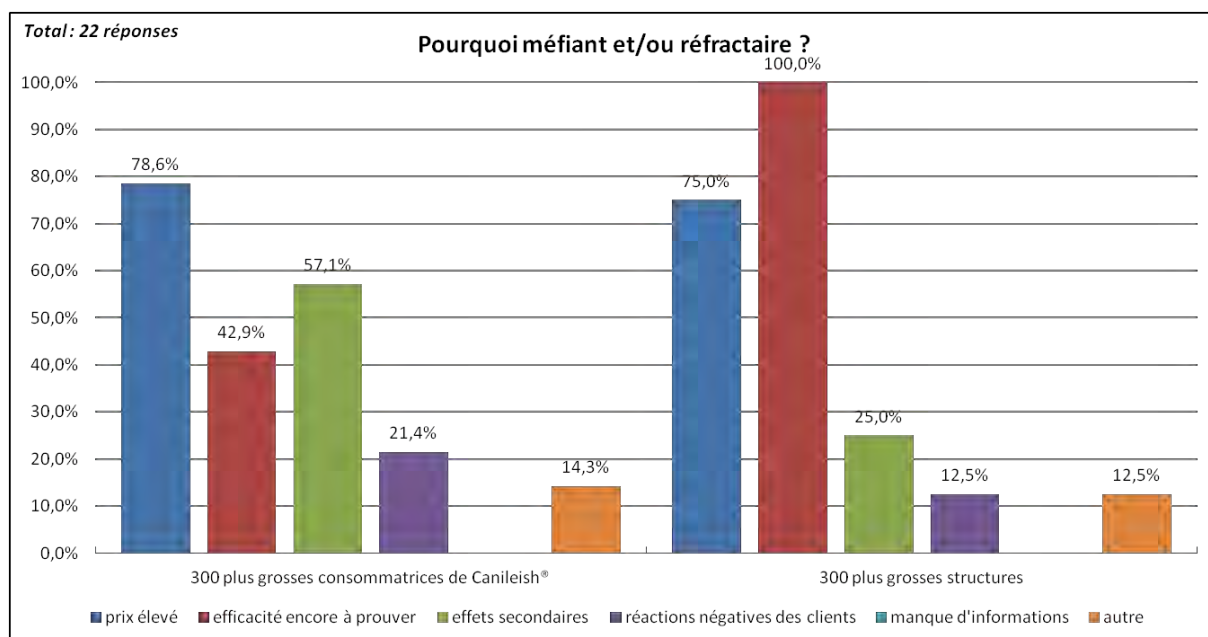
Ces données générales dissimulent quelques disparités par catégorie.

Ainsi, des doutes sur l'efficacité du vaccin sont un frein pour 100% des vétérinaires non « gros consommateurs » de Canileish® alors qu'ils ne posent problème qu'à 42,9% des autres (différence significative : test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 7,18$  et  $p\text{-value} = 0,007$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un  $ddl = 1$ ).

Au contraire, le prix élevé gêne de manière équivalente 78,6% des vétérinaires « gros consommateurs » de Canileish® et 75% des autres.

De même, les effets secondaires sont cités par plus de 1 vétérinaire sur 2 parmi les « gros consommateurs » et 1 vétérinaire sur 4 parmi les autres, mais cette différence n'est pas significative (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 2,122$  et  $p\text{-value} = 0,145$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un  $ddl = 1$ ).

Enfin, les réactions négatives des clients gênent peu de vétérinaires : 21,4% des « gros consommateurs de Canileish® » et 12,5% des autres, sans différence significative ( $X^2 = 0,273$  et  $p\text{-value} = 0,601$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1) : **graphique 13**. Ces résultats sont à mettre en relation avec ceux de la question 14 relative aux difficultés des confrères lors de la vaccination.



**Graphique 13 : Raisons motivant une opinion défavorable des vétérinaires vis-à-vis de Canileish®.**

#### *f. Communication avec les propriétaires de chiens*

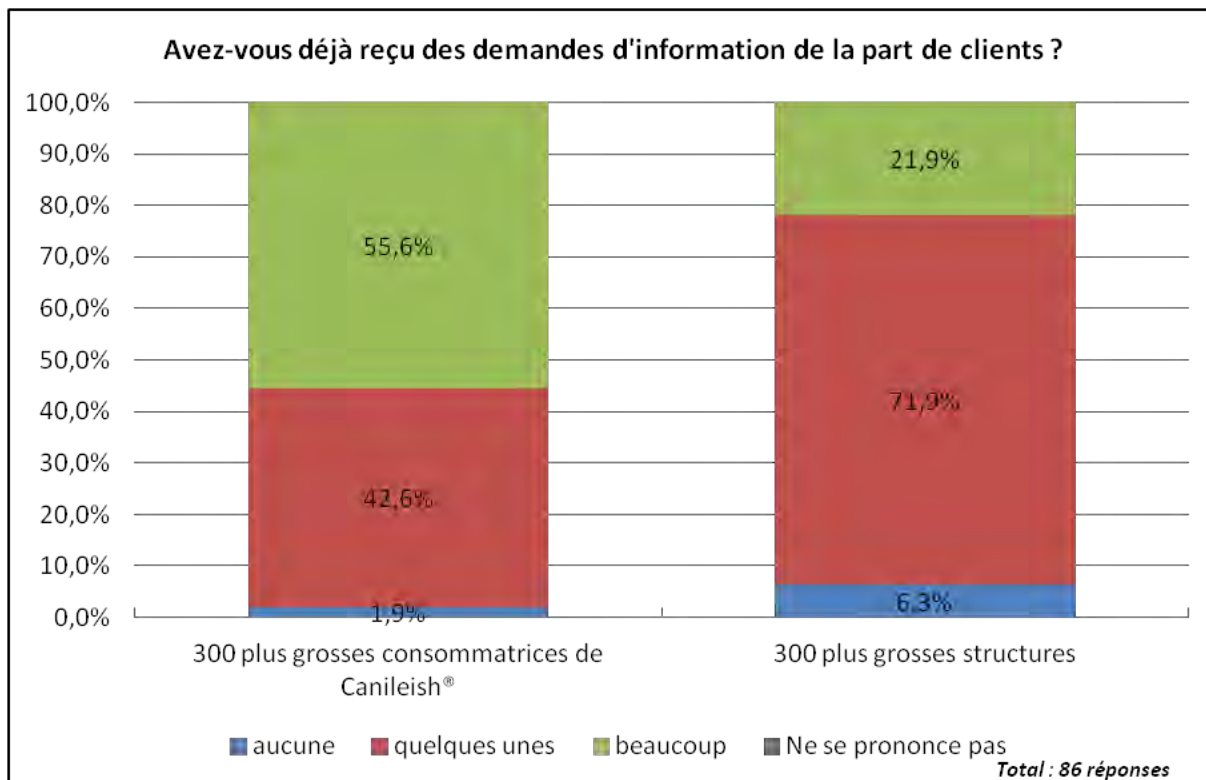
53,5% de nos confrères affirment avoir reçu quelques demandes d'information de clients au sujet de Canileish®. 43% ont été très sollicités, et seulement 3,5% n'ont reçu aucune demande.

Si l'on regarde les résultats de plus près, les vétérinaires « gros consommateurs de Canileish® » semblent les plus sollicités (**graphique 14**):

- 55,6% de « beaucoup » contre 21,9% pour les autres vétérinaires : différence significative (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 9,30$  et  $p\text{-value} = 0,002$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).
- 42,6% de « quelques-unes » contre 71,9% pour les autres vétérinaires : différence significative (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 6,92$  et  $p\text{-value} = 0,008$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).

Cette différence peut être mise en lien avec leur importante utilisation du vaccin (selon les données Virbac). Nous verrons dans la suite des questions si leur stratégie de communication auprès des clients joue aussi un rôle.





**Graphique 14 : Demande d'informations de la part de clients au sujet de Canileish®.**

Les réponses aux questions suivantes montrent que la majorité de nos confrères se sont attachés à informer leur clientèle de l'existence du vaccin contre la leishmaniose :

- 90,7% d'entre eux affirment avoir mis en place des moyens d'information.
- 93% en ont spontanément parlé au cours d'une consultation.

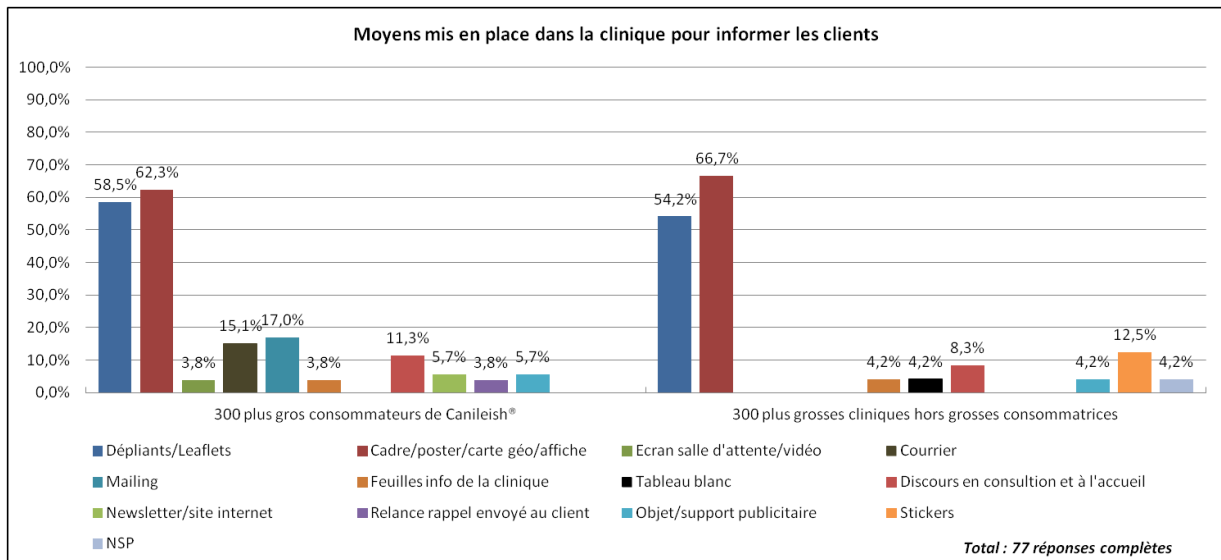
Là encore, une distinction peut être faite entre les deux catégories de vétérinaires :

- 98,1% des confrères appartenant aux cliniques « grosses consommatrices de Canileish® » ont mis en place des moyens d'information sur le vaccin, contre 78,1% des autres (différence significative : test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 9,55$  et  $p\text{-value} = 0,002$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un  $ddl = 1$ ).
- 98,1% des confrères appartenant aux cliniques « grosses consommatrices de Canileish® » ont spontanément parlé du vaccin, contre 84,4% des autres (différence significative : test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 5,87$  et  $p\text{-value} = 0,0015$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un  $ddl = 1$ ).

Ceci indique que les gros consommateurs de Canileish® ont opéré une stratégie de communication significativement plus importante que les autres.

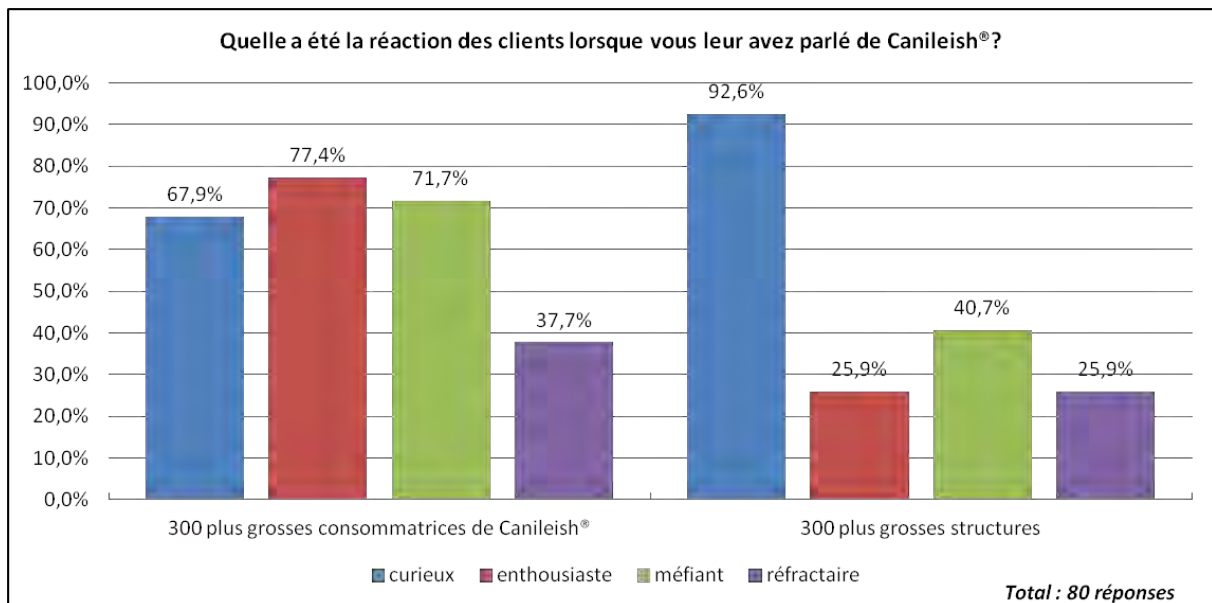
Par une question ouverte, nos confrères étaient invités à détailler le type de moyens d'information mis à disposition de leurs clients. 77 d'entre eux se sont exprimés. L'affichage et les dépliants/leaflets se démarquent largement, quelle que soit la catégorie des vétérinaires, avec une moyenne de 63,6% de citations pour le premier et 57,1% pour les seconds.

On dénombre un panel d'outils plus large chez les vétérinaires « gros consommateurs » de Canileish®, avec notamment l'évocation des courriers (15,1% d'entre eux), du mailing (17%) et des informations sur le site internet de la clinique (5,8%), qui n'ont pas été cités par nos autres confrères (**graphique 15**).



**Graphique 15 : Moyens d'information sur Canileish® mis à disposition de la clientèle.**

Il a été demandé aux 80 praticiens ayant spontanément parlé du vaccin à leurs clients, comment ils avaient perçu la réaction de ces derniers. A première vue, il ne se dégage pas une tendance particulière des réponses recueillies (**graphique 16**). Si la curiosité est de mise, en particulier dans les réponses des vétérinaires non « gros consommateurs de Canileish® », les avis restent très mitigés.



**Graphique 16 : Réactions des clients perçues par les vétérinaires vis-à-vis de Canileish®.**

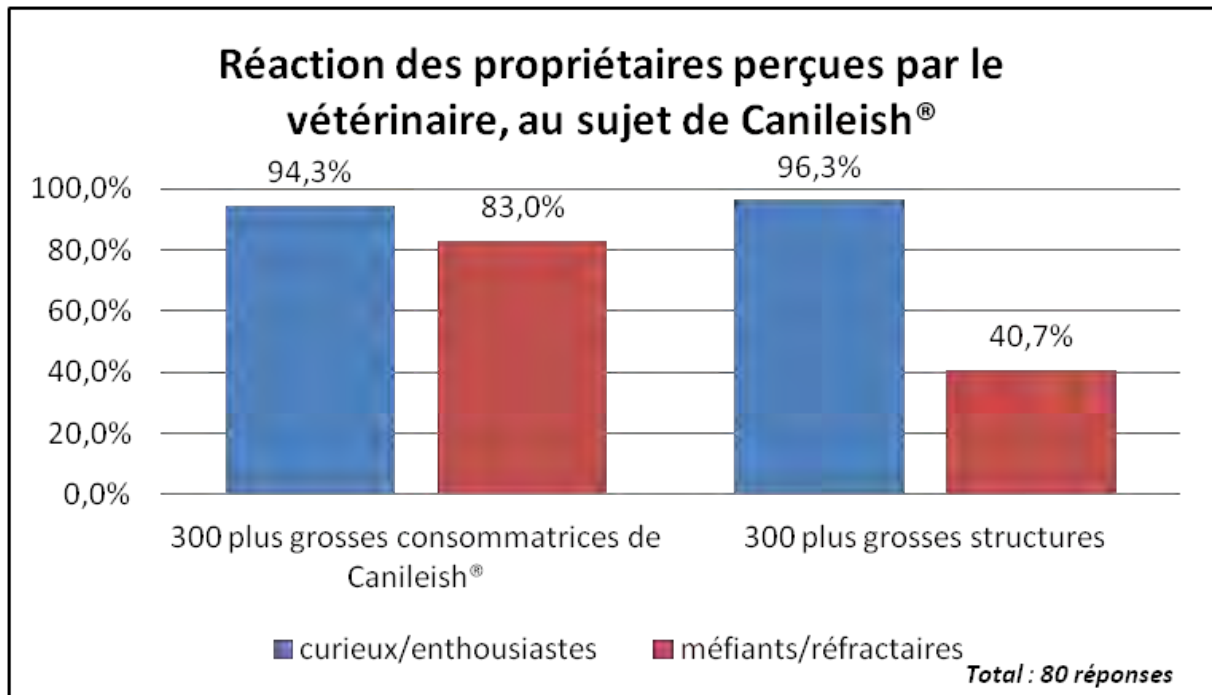
Afin d'obtenir une vision d'ensemble, nous avons comptabilisé les réponses comme suit :

- « curieux » et/ou « enthousiaste » coché(s) = 1 opinion favorable.
- « méfiant » et/ou « réfractaire » coché(s) = 1 opinion défavorable.

Il apparaît que les vétérinaires « gros consommateurs de Canileish® » :

- perçoivent beaucoup plus d'opinions négatives de la part de leurs clients : 83% contre 40,7% ( $X^2 = 19,34$  et  $p\text{-value} = 1,09 \cdot 10^{-5}$ ) pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1)
- mais perçoivent autant de réactions positives : 94,3% contre 96,3% ( $X^2 = 2,516$  et  $p\text{-value} = 0,113$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).

Les résultats sont présentés sur le **graphique 17**.



**Graphique 17 : Etat d'esprit des propriétaires des chiens vis-à-vis de la vaccination avec Canileish®.**

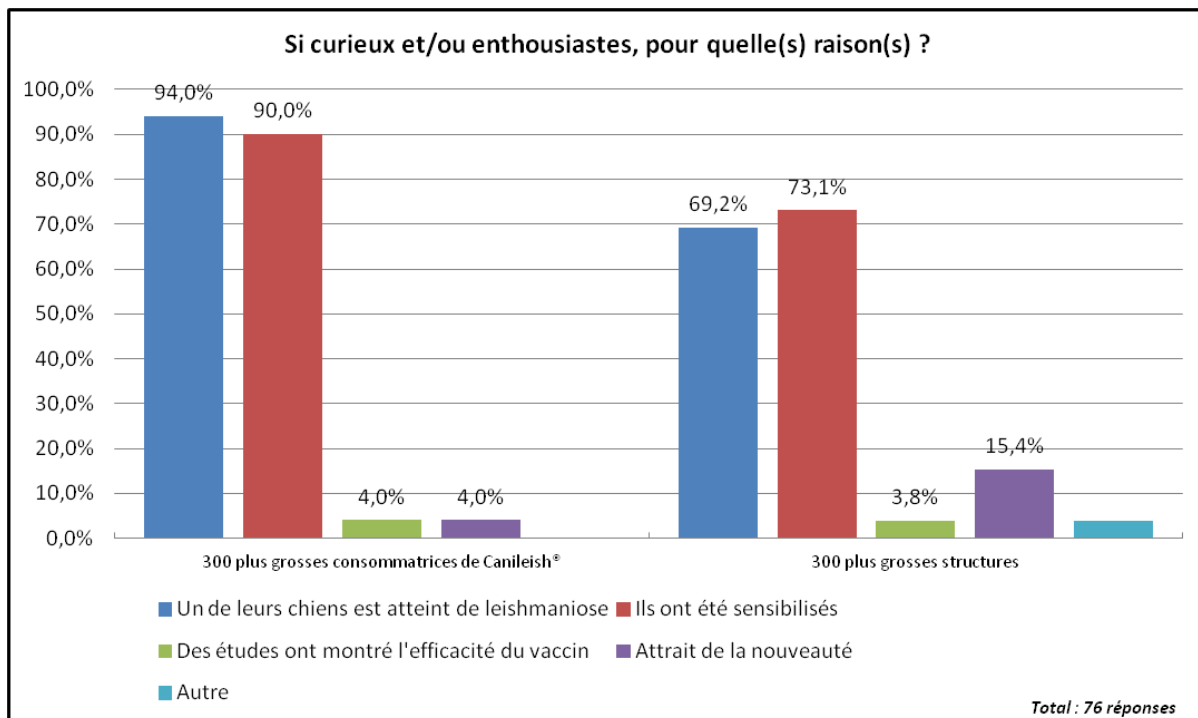
#### α. Clients curieux et/ou enthousiastes

Selon plus de 80% de nos confrères, la principale raison motivant une réaction positive des clients vis-à-vis du vaccin contre la leishmaniose est la connaissance de la maladie, soit parce qu'un de leurs chiens en a été atteint (85,5%), soit parce qu'ils y ont été sensibilisés (84,2%). Les deux catégories de vétérinaires s'accordent sur ce point. L'attrait de la nouveauté n'est cité que par 7,9% des confrères. L'efficacité du vaccin n'est pas selon eux ce qui enthousiasme les clients (3,9% de citations). Un praticien a également précisé que des clients s'intéressaient au vaccin lorsqu'ils envisageaient de partir en vacances sur le pourtour méditerranéen.

Si l'on s'intéresse à la répartition des réponses par catégories, on note que :

- Les « gros consommateurs de Canileish® » ont dans leur clientèle plus de propriétaires dont un des chiens est ou a été atteint de leishmaniose, que les autres vétérinaires ( $X^2 = 5,037$  et  $p\text{-value} = 0,025$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).
- Au contraire, il n'y a pas de différence significative en ce qui concerne le nombre de propriétaires sensibilisés à la leishmaniose ( $X^2 = 3,684$  et  $p\text{-value} = 0,055$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).

Les résultats sont présentés sur le **graphique 18**.



**Graphique 18 : Raisons motivant des réactions positives des clients vis-à-vis de Canileish®, selon les vétérinaires.**

### β. Clients méfiants et/ou réfractaires

Les principaux points de débat ou refus des clients, selon les vétérinaires, sont :

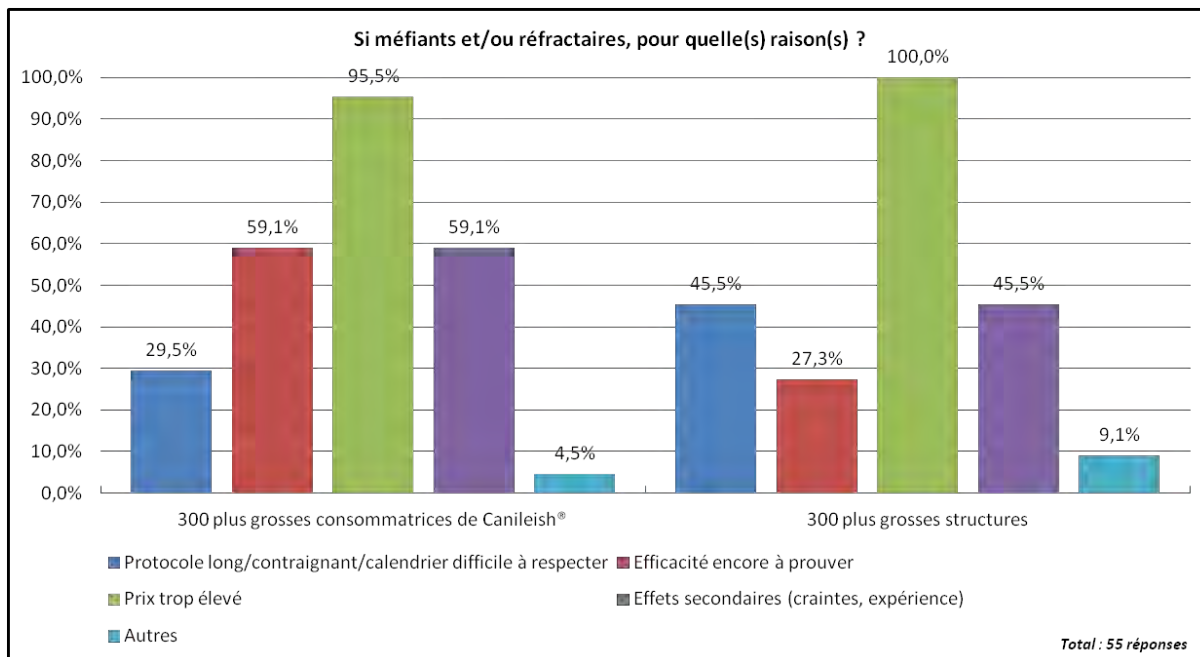
- le prix du vaccin, selon plus de 95% des vétérinaires interrogés.
- le manque d'informations sur l'efficacité réelle et la crainte des effets secondaires, pour plus de 1 confrère sur 2.
- la longueur et la complexité du protocole de primovaccination selon près de 1 confrère sur 3.

Parmi les autres raisons citées en question ouverte, apparaissent le manque d'intérêt pour la maladie, ainsi que la contrainte de devoir maintenir les autres moyens de prévention en parallèle.

Si l'on répartit les données par catégorie de vétérinaire répondant, le prix se place en première position des points négatifs pour les clients. En revanche, selon les vétérinaires « gros consommateurs » de Canileish®, les doutes sur l'efficacité et la crainte des effets secondaires priment sur la longueur du protocole. Au contraire, pour les autres vétérinaires, ce sont la longueur du protocole et la crainte des effets secondaires qui occasionneraient le plus de réticences (**graphique 19**).

Si l'on compare les données relatives à chaque catégories de vétérinaires pour une proposition donnée, on remarque que les différences observées sont seulement liées au hasard (fluctuations d'échantillonnage) :

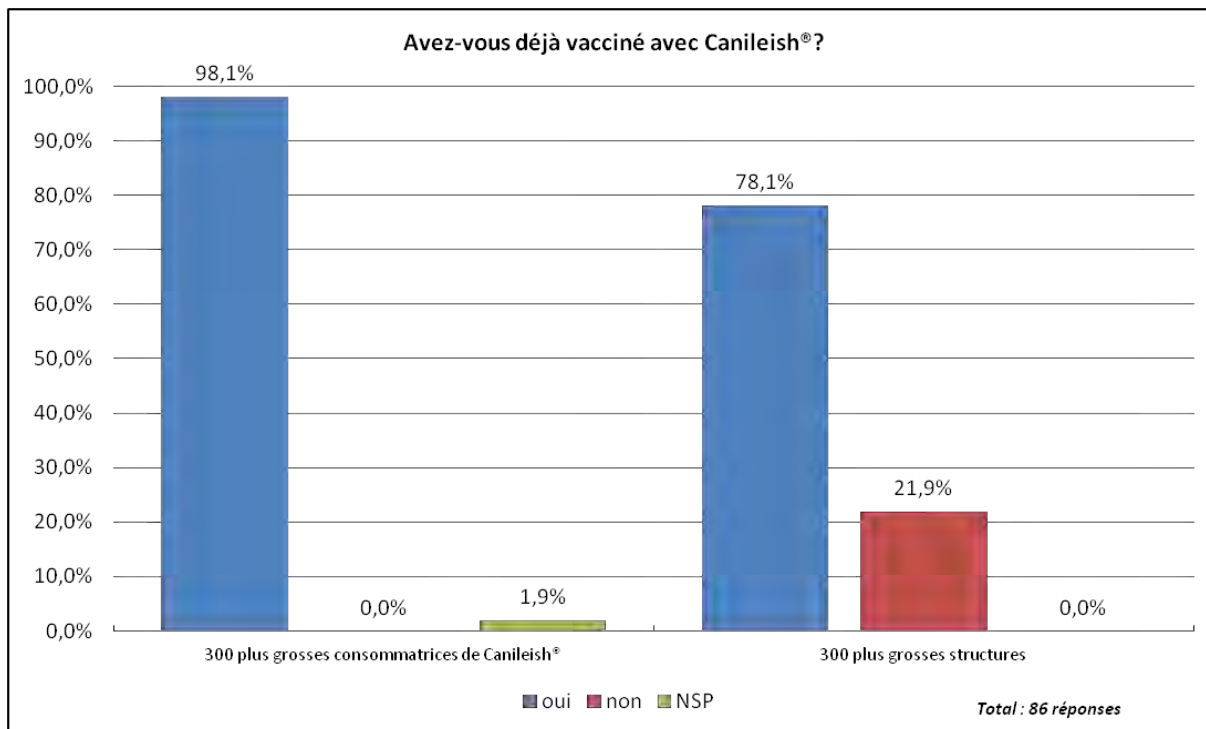
- Prix trop élevé :  $X^2 = 0,519$  et p-value = 0,471 pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1.
- Effets indésirables (craints ou vécus) :  $X^2 = 0,665$  et p-value = 0,415 pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1.
- Efficacité encore à prouver :  $X^2 = 3,574$  et p-value = 0,059 pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1.
- Protocole long et/ou contraignant :  $X^2 = 1,012$  et p-value = 0,315 pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1.



**Graphique 19 : Raisons motivant des réactions négatives des clients vis-à-vis de Canileish®, selon les vétérinaires.**

*g. L'utilisation de Canileish® dans la pratique quotidienne*

Au moment de la réception des questionnaires d'enquête, soit 1 an environ après le début de commercialisation de Canileish® en France, 9 vétérinaires interrogés sur 10 en zone d'endémie affirment avoir déjà vacciné avec ce vaccin. Une différence significative est cependant notable, entre les réponses des vétérinaires dits « gros consommateurs » du vaccin (98,1% de réponses positives) et les autres (78,1% de réponses positives) : test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 9,54$  et  $p\text{-value} = 0,002$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1 (**graphique 20**).



**Graphique 20 : Vétérinaires ayant déjà vacciné avec Canileish® 1 an après le début de sa commercialisation.**

#### α. Déroulement de la primovaccination

Parmi les vétérinaires ayant déjà vacciné contre la leishmaniose, nous avons souhaité savoir si les bonnes pratiques de base étaient respectées lors de la primovaccination. Et la réponse est très largement « oui » :

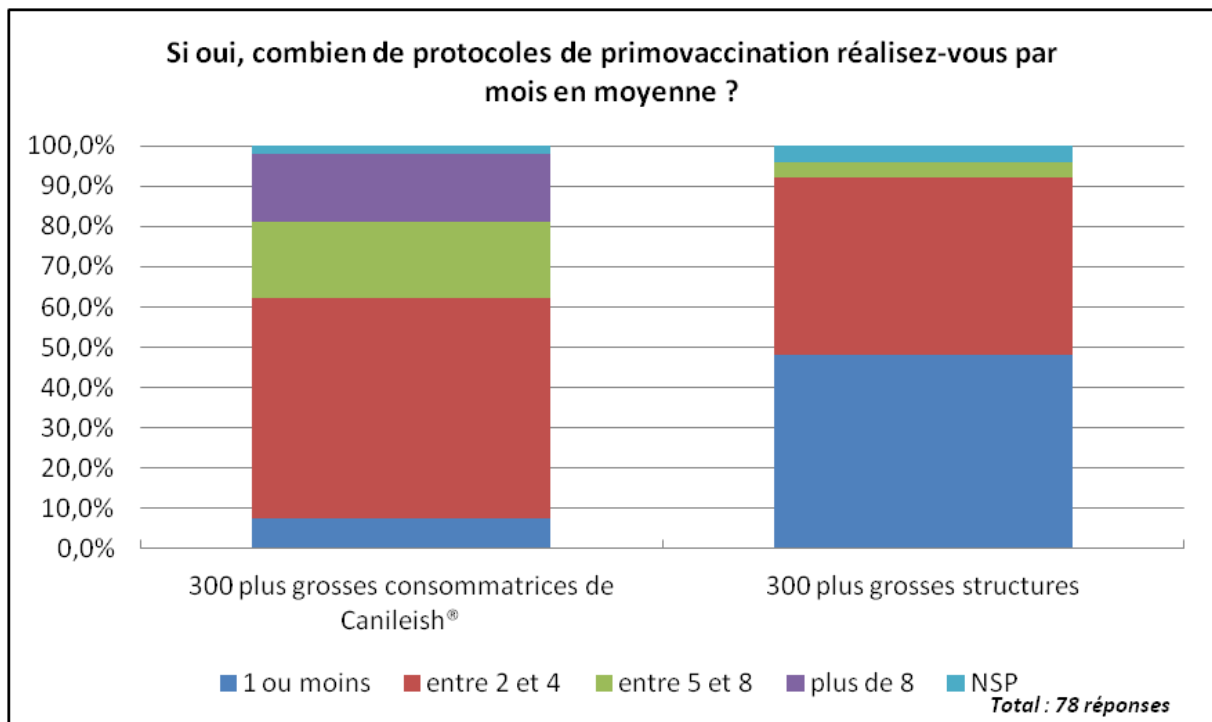
- 98,7% de nos confrères affirment vérifier que l'animal a plus de 6 mois.
- 96,2% des praticiens réalisent un test rapide afin de vérifier si l'animal est séronégatif.

Concernant le nombre de protocoles de primovaccination initiés chaque mois, nous notons sans surprise une différence entre les deux catégories de vétérinaires interrogés (**graphique 21**).

54,7% des « gros consommateurs de Canileish® » initient en moyenne 2 à 4 protocoles de primovaccination, près de 19% en initient de 5 à 8 et 17% en initient plus de 8. Seuls 7,5% en initient 1 ou moins. En revanche pour les autres vétérinaires interrogés, 44% disent commencer entre 2 et 4 protocoles par mois, et 48% 1 protocole ou moins. Seuls 4% initient entre 5 et 8 protocoles par mois.

En bilan, les « gros consommateurs de Canileish® » entreprennent plus de primovaccinations que leurs confrères ce qui, au vu du biais imposé par l'échantillonnage, n'est pas une surprise.

La primovaccination avec Canileish® étant remarquable par sa complexité et sa longueur (3 injections à 3 semaines d'intervalle), nous avons souhaité savoir quelle proportion de protocoles initiés était menée à son terme. 97,4% des praticiens affirment réussir à achever plus de 80% des protocoles, sans différence significative entre les vétérinaires « gros consommateurs » du vaccin et les autres.



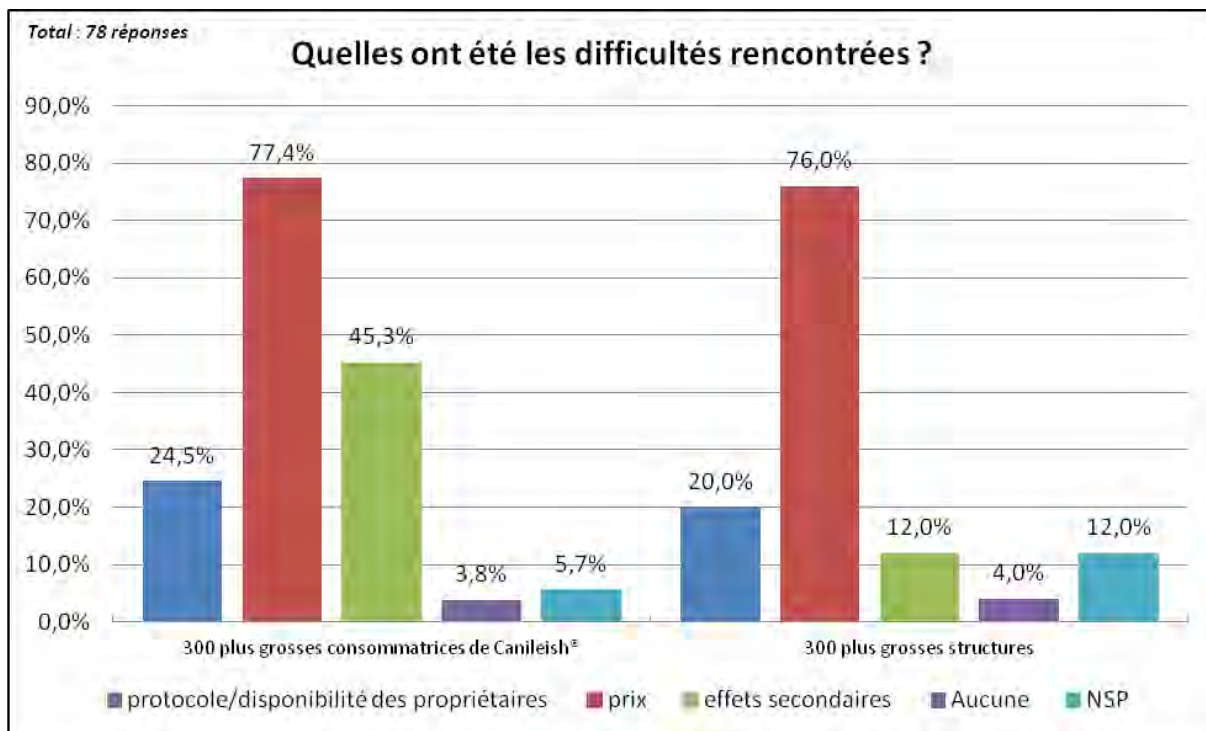
**Graphique 21 : Nombre de protocoles de primovaccination initiés par mois en moyenne, par les vétérinaires ayant déjà vacciné contre la leishmaniose.**

Parmi les difficultés rencontrées lors de la vaccination, 76,9% des vétérinaires ayant déjà utilisé Canileish® citent le prix. Les effets indésirables arrivent en seconde position (34,6%), puis le protocole/la disponibilité des propriétaires (23,1%). Seule une faible proportion n'a rencontré aucune difficulté (3,8%). 7,7% ne se prononcent pas.

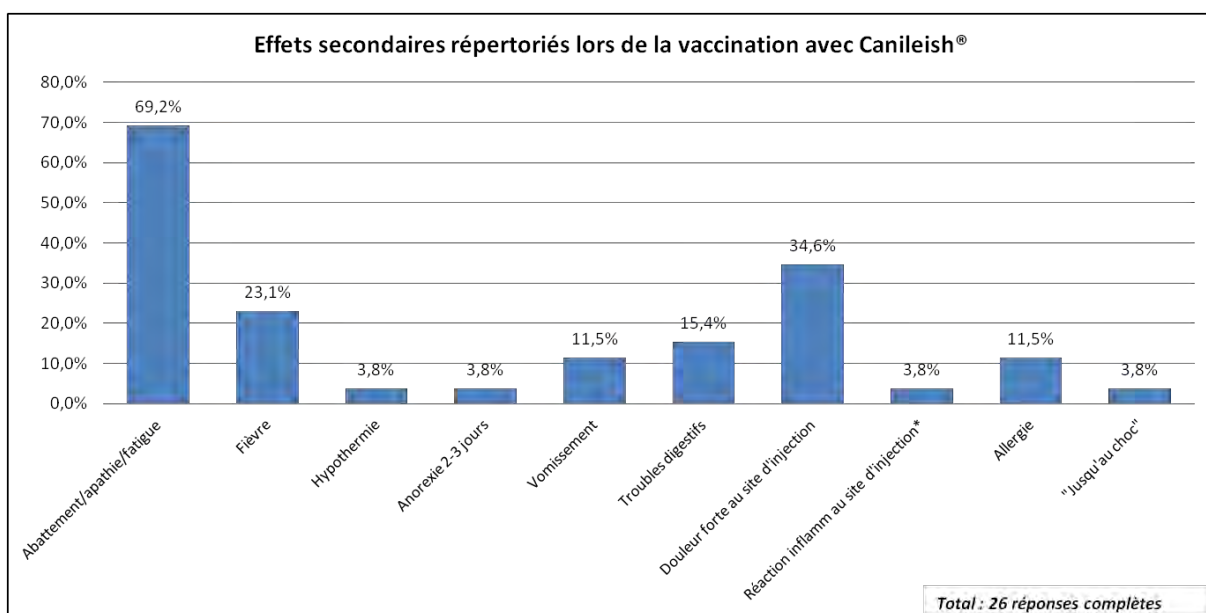
Si l'on compare les données par catégorie de vétérinaire (**graphique 22**) :

- Il n'y a pas de différence significative en ce qui concerne les pourcentages accordés aux propositions « prix », « protocole » et « aucune ».
- Les effets secondaires arrivent en seconde position avec 45,3% de citations par les vétérinaires «gros consommateurs de Canileish® », mais en troisième position pour les autres vétérinaires avec 12% de voix (différence significative : test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 8,314$  et  $p\text{-value} = 0,004$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).

En question ouverte, nous demandions aux vétérinaires ayant signalé des effets secondaires de préciser lesquels (**graphique 23**). Deux types se démarquent : une réaction générale d'abattement pour près de 70% des réponses fournies, et une réaction locale de douleur au site d'injection pour 35%. En particulier, un de nos confrères précise qu'il a surtout noté des réactions inflammatoires chez les chiens de petit format. Parmi les réactions allergiques, des plaques d'urticaires ont été évoquées. Enfin, parmi les troubles digestifs, une intussusception a été signalée. Toute mesure doit être prise quant à l'interprétation de cette donnée (lien de causalité entre la vaccination et cette pathologie).



Graphique 22 : Difficultés rencontrées lors de la vaccination avec Canileish®.



Graphique 23 : Effets secondaires rencontrés par nos confrères lors de la vaccination avec Canileish®.

### β. Prix de la primovaccination

Le coût d'un acte étant très important pour l'acceptation de sa réalisation, nous avons demandé à nos confrères à combien revenait la primovaccination avec Canileish® dans leur clinique (incluant les 3 consultations vaccinales et le test de dépistage rapide). Quasiment tous la facturent à plus de 150 euros (**graphique 24**):

- 46,3% des vétérinaires « gros consommateurs » de Canileish® établissent un prix compris entre 150 et 200 euros, contre 50,4% des autres, mais cette différence n'est statistiquement pas significative (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 1,38$  et  $p\text{-value} = 0,241$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).



- 59,1% des vétérinaires « gros consommateurs » de Canileish® établissent un prix supérieur à 200 euros, contre 31,3% des autres, mais cette différence n'est statistiquement pas significative (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 3,46$  et p-value = 0,06 pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1).

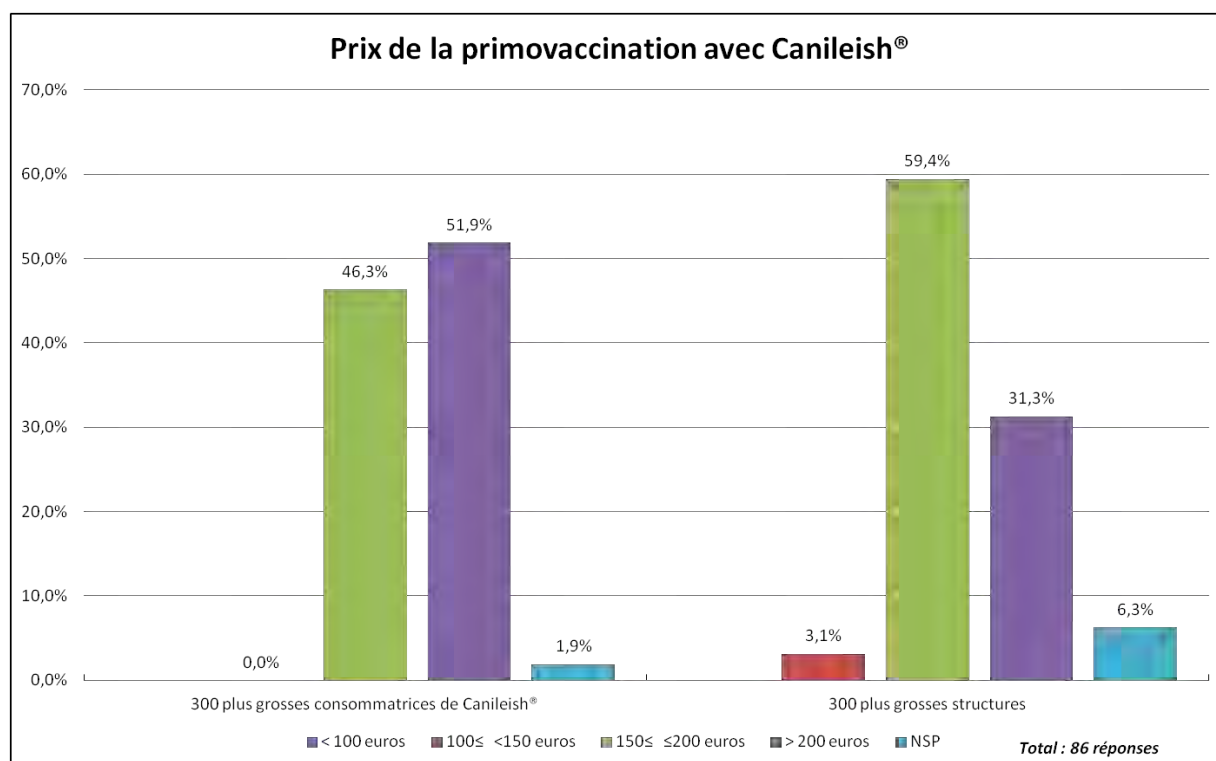
En moyenne, ce montant est estimé à 206,9 euros.

En question ouverte, nous avons interrogé nos confrères sur leurs pratiques tarifaires. 70,9% d'entre eux affirment proposer un forfait ou une facilité de paiement pour la primovaccination (dont 81,5% des « gros consommateurs » de Canileish® et 53,1% des autres : différence significative, test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 7,84$  et p-value = 0,005 pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un ddl = 1) : **graphique 25**.

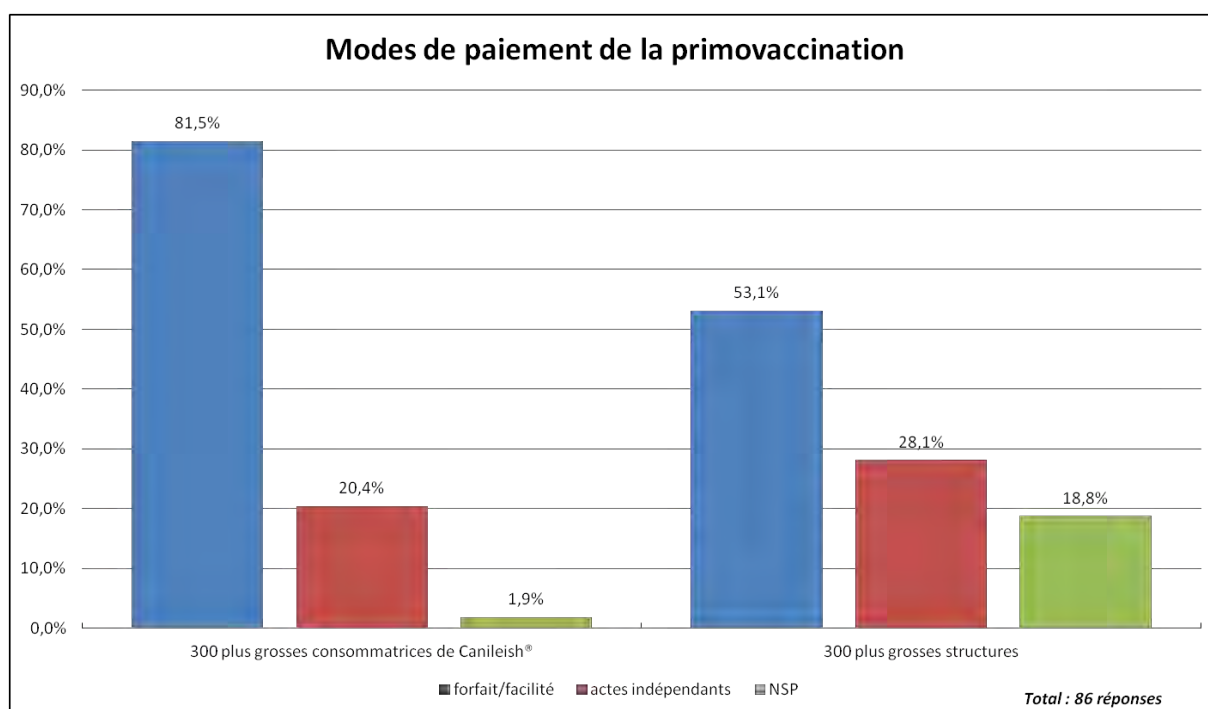
Parmi les facilités de paiement citées, nous avons par ordre de fréquence :

- Choix du paiement en une ou plusieurs fois.
- 3<sup>ème</sup> injection gratuite.
- Test de dépistage offert.
- Remise sur les deux dernières injections.
- 2 dernières consultations gratuites.
- Paiement à chaque acte mais remise si plusieurs animaux.

L'un de nos confrères a proposé un forfait pour le lancement, avant de passer au paiement à l'acte.



**Graphique 24 : Prix de la primovaccination avec Canileish®.**



**Graphique 25 : Moyens de paiement de la primovaccination avec Canileish® proposés par le vétérinaire.**

#### *h. Avenir de la vaccination avec Canileish®*

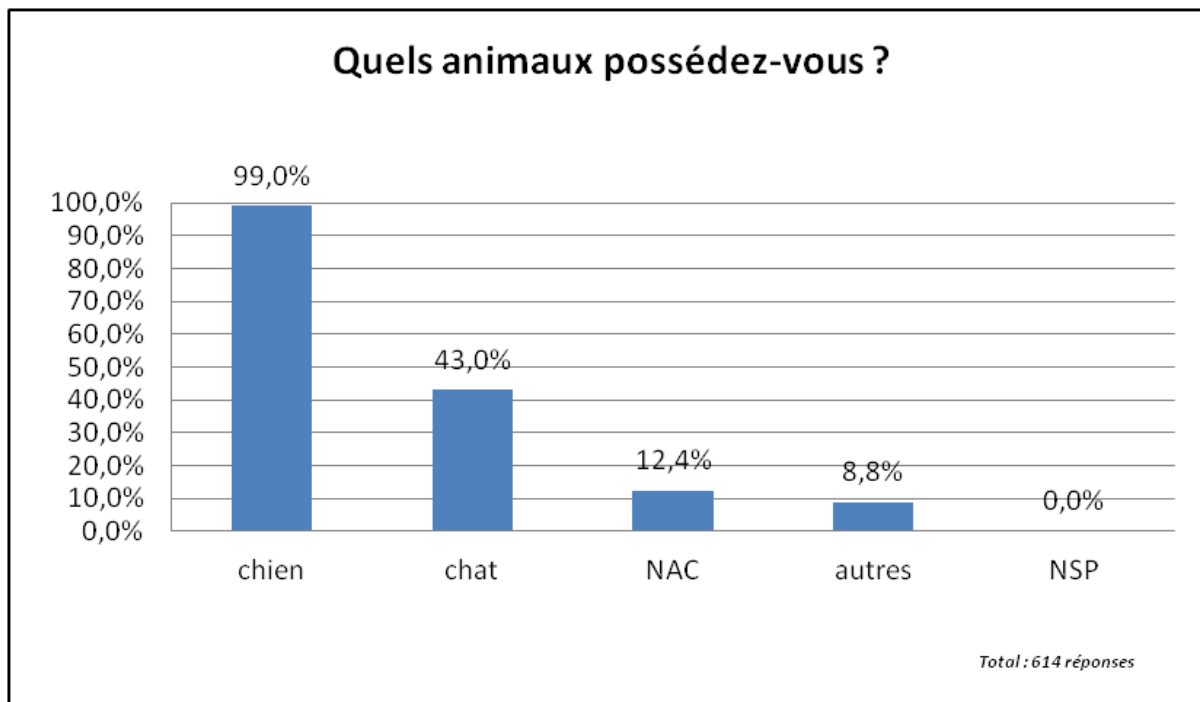
94,2% de nos confrères affirment vouloir continuer à proposer la vaccination contre la leishmaniose à leurs clients, suite à leur première expérience. Parmi eux, on retrouve 98,1% des vétérinaires dits « gros consommateurs » de Canileish® et 87,5% des autres vétérinaires. Cette différence est significative (test du Khi deux d'indépendance,  $X^2 = 4,16$  et  $p\text{-value} = 0,04$  pour un risque de première espèce  $\alpha = 0,05$  et un  $ddl = 1$ ).

### **3. Perception de Canileish® par les propriétaires de chiens**

#### *a. Profil des personnes ayant répondu*

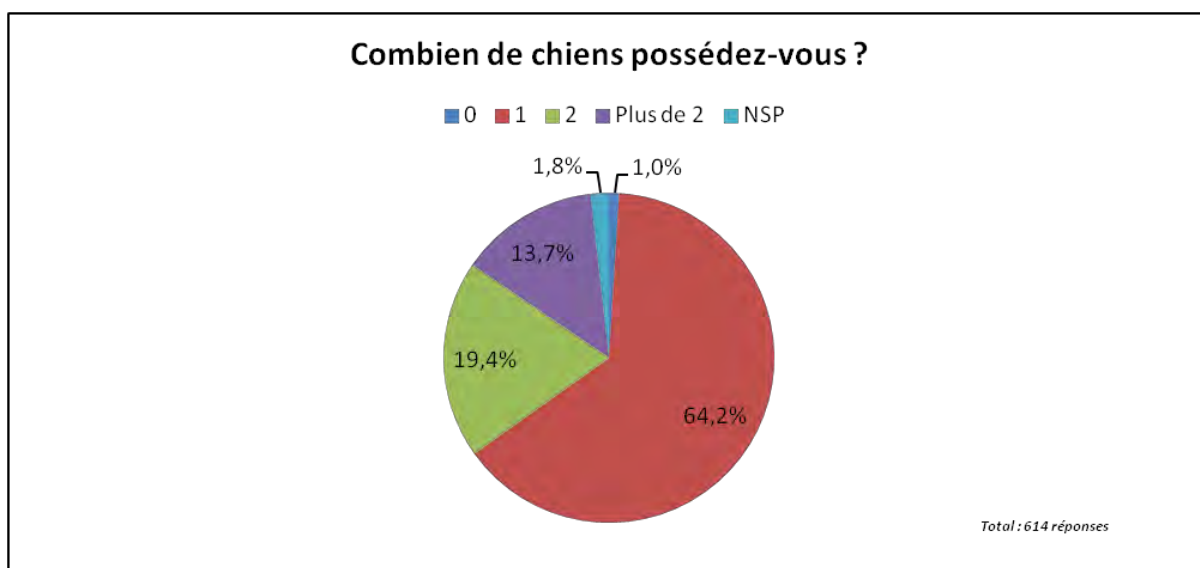
67,9% des propriétaires de chiens ayant répondu au questionnaire sont des femmes. 29,8% sont des hommes, 1,1% des couples et 1,1% ne souhaitent pas se prononcer. Concernant l'âge, 69,7% ont entre 25 et 60 ans, 21% ont plus de 60 ans, seulement 9% ont moins de 25 ans et 0,3% ne souhaitent pas se prononcer.

La quasi-totalité des questionnaires a été distribuée correctement, c'est-à-dire à des propriétaires de chiens. Seulement 1% des personnes interrogées ne possédaient pas de chiens (**graphique 26**). Parmi les animaux « autres », plus de 1 propriétaire sur 2 a cité les chevaux.



**Graphique 26 : Animaux détenus par les personnes interrogées.**

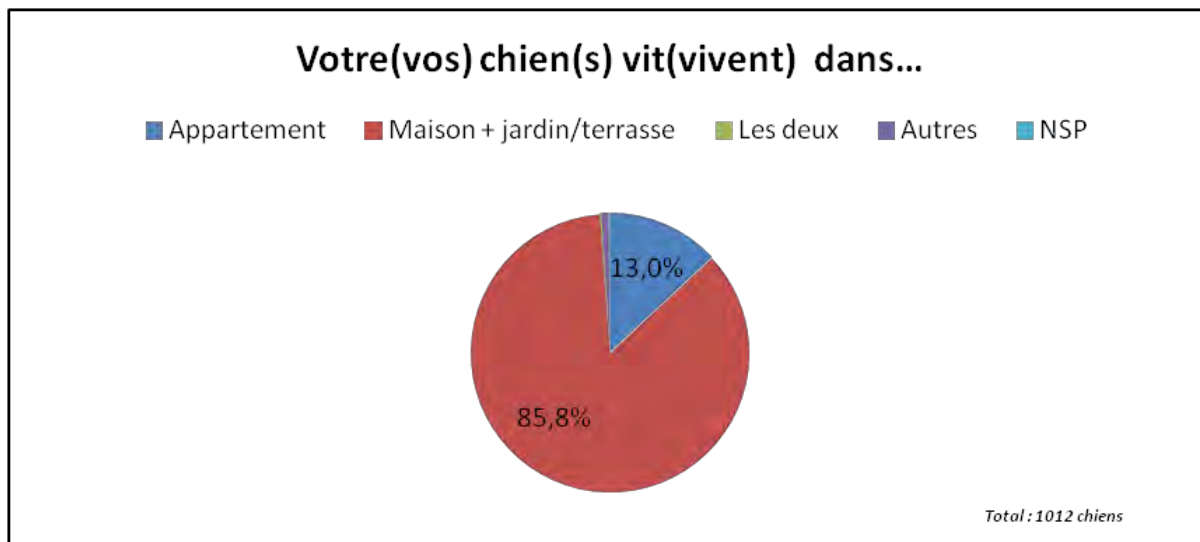
Plus de 6 propriétaires sur 10 ne vivent qu'avec un seul chien. 19% en ont 2 et 14% en ont plus de 2 (**graphique 27**). Le maximum décrit fut « entre 15 et 20 chiens ».



**Graphique 27 : Nombre de chiens par propriétaire ayant répondu.**

#### *b. Mode de vie et facteurs de risque de leishmaniose*

Sur les 1012 chiens dénombrés, plus de 85% vivent en maison avec jardin ou terrasse, et 13% vivent en appartement (**graphique 28**). Ceci signifie que la majorité des chiens des propriétaires interrogés ont un accès à l'extérieur, donc sont potentiellement soumis au risque de piqûres de phlébotomes. Parmi les réponses « autres », citons les « chenils avec terrain » et le « camping », c'est-à-dire avec là encore un risque élevé de piqûres lors des périodes de forte activité.



**Graphique 28 : Lieux de vie des chiens de notre panel.**

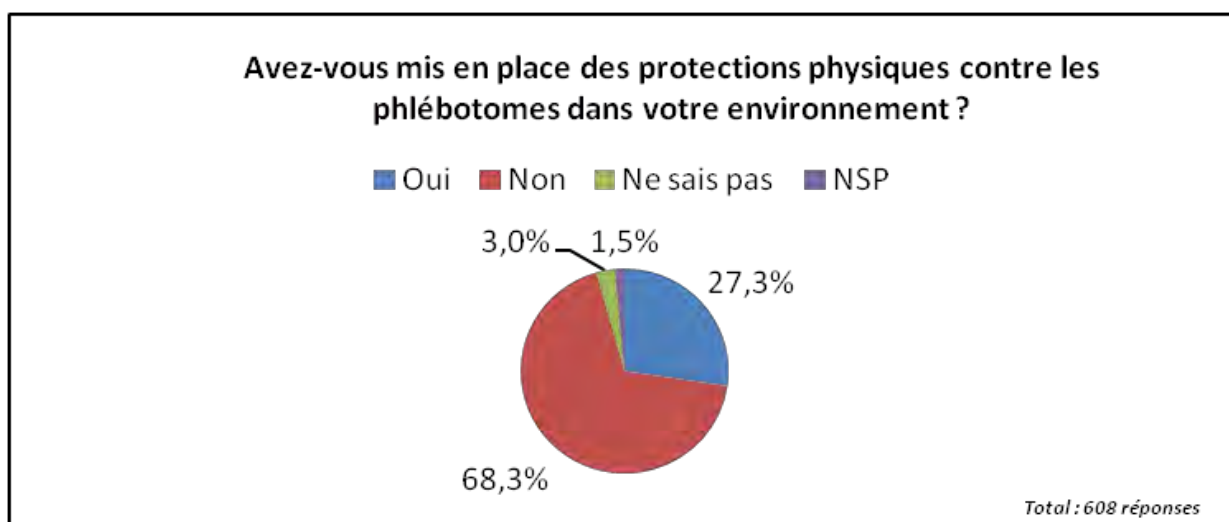
De mai à octobre, c'est-à-dire pendant la période d'activité des phlébotomes en milieu tempéré :

- Le jour, plus de 1 chien sur 2 vit majoritairement dehors, près de 36% vivent principalement dedans et environ 10% vivent à la fois dedans et dehors.
- Le crépuscule et la nuit, le pourcentage de chiens restant dehors tombe à 18%, en toute logique plus de 3 chiens sur 4 dorment donc dedans. 5,6% des chiens n'ont pas de lieu de couchage particulier.

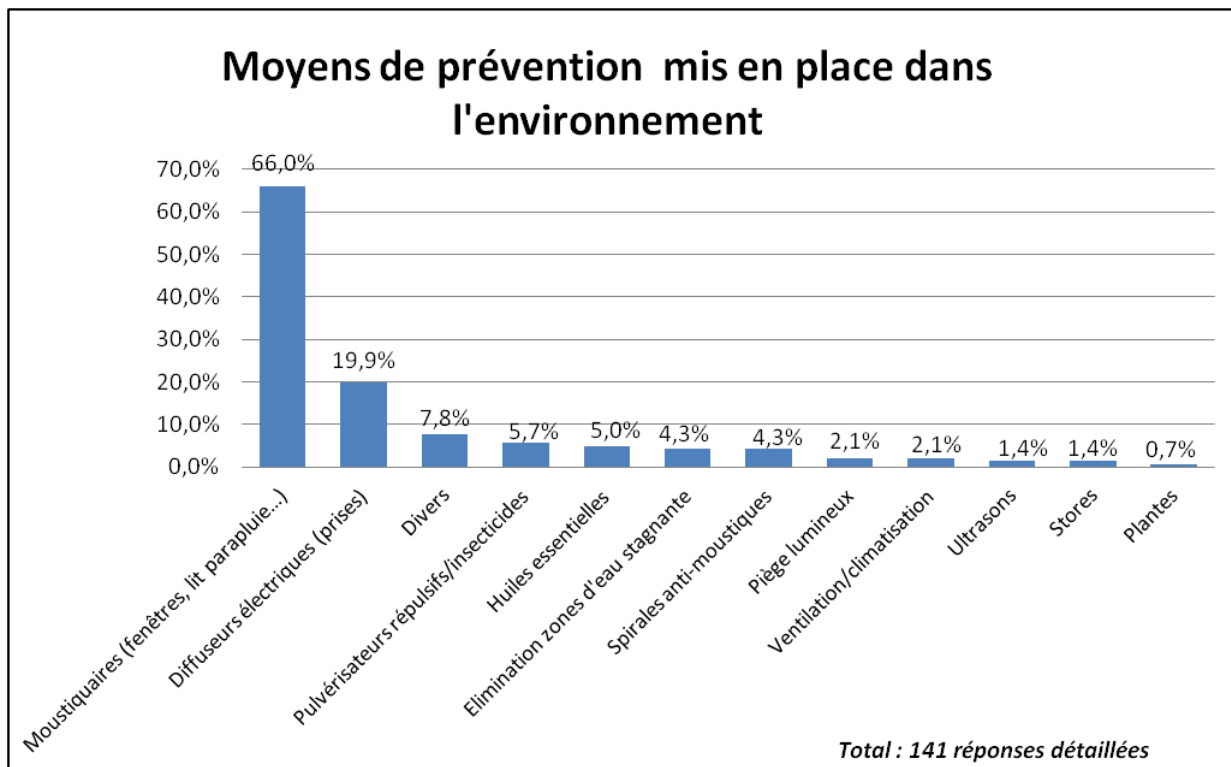
La mise en relation des données relatives à ces deux questions nous indique que même si 85% des chiens de notre panel ont pu avoir accès à l'extérieur lors des périodes les plus à risque, seul 1 chien sur 4 est réellement en danger.

#### *c. Moyens de prévention mis en place par les propriétaires de chiens*

Moins de 3 propriétaires de chiens sur 10 affirment mettre en place dans leur environnement des moyens physiques de protection contre les phlébotomes (**graphique 29**). Parmi ces moyens, la moustiquaire arrive en tête puisqu'elle est citée dans 66% des réponses. Arrivent ensuite les diffuseurs (cités dans 20% des réponses) : **graphique 30**.



**Graphique 29 : Protections physiques mises en place dans l'environnement, contre les phlébotomes.**

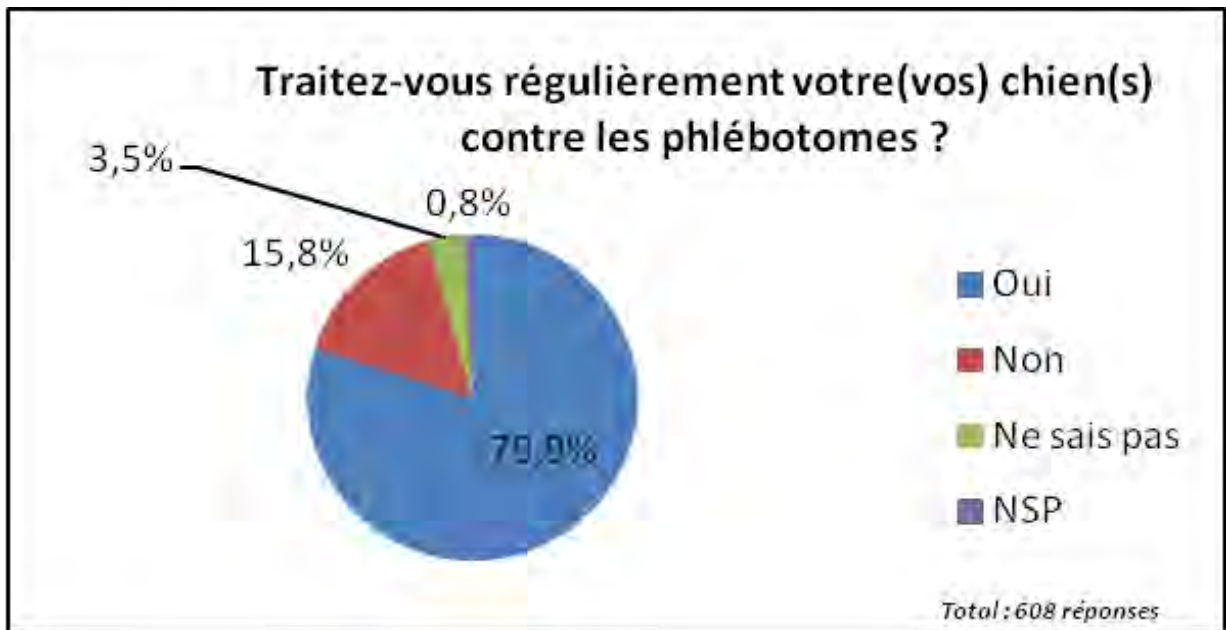


**Graphique 30 : Question libre : nature des moyens de lutte contre les phlébotomes dans l'environnement.**

Près de 80% des propriétaires interrogés affirment traiter régulièrement leur(s) chien(s) contre les phlébotomes (**graphique 31**). Parmi les moyens utilisés, la pipette est citée dans 68,7% des réponses, et le collier dans 56% des réponses. La pipette est utilisée seule dans 43% des cas, le collier seul dans 29,2% des cas. L'association du collier et de la pipette est utilisée par 25,1% des propriétaires.

En ce qui concerne les fréquences de renouvellement des moyens de prévention, les réponses obtenues à la question ouverte indiquent que :

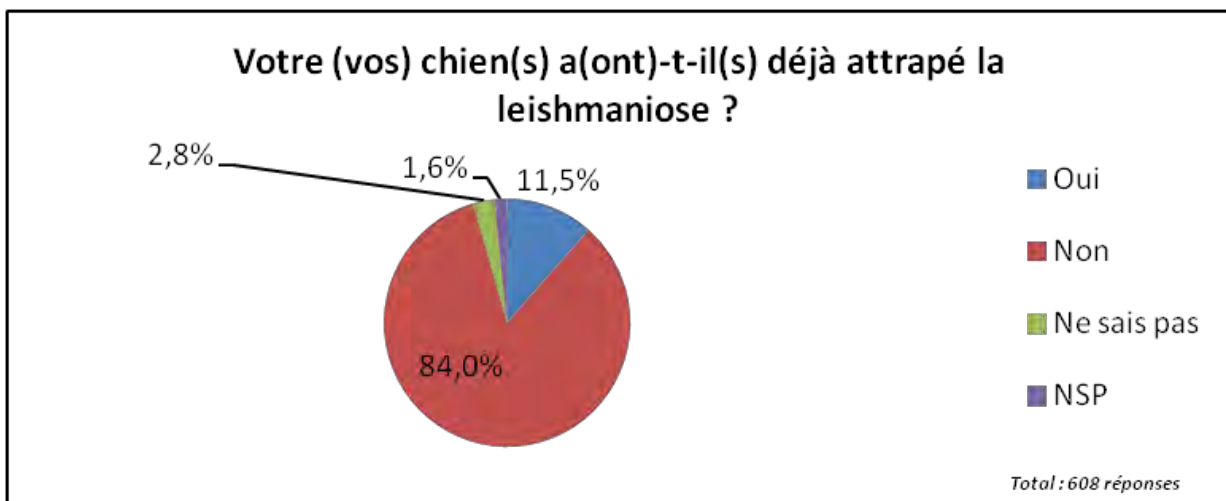
- Parmi les propriétaires utilisant les colliers régulièrement, plus d'1 sur 2 change le collier de son chien deux fois par an.
- Parmi les propriétaires utilisant des pipettes régulièrement, la fréquence de 3 semaines à 1 mois semble de manière générale communément admise. 66% des renouvellements sont effectués dans un délai de 1 mois ou moins, dont 15% toutes les 3 semaines.
- Parmi les propriétaires utilisant des pipettes régulièrement, 11% affirment traiter toutes les 3 semaines ou tous les mois pendant la période d'activité des phlébotomes. Ils ne précisent pas s'ils continuent à traiter contre les autres parasites externes le reste de l'année.
- Parmi les propriétaires utilisant des pipettes régulièrement, 2 personnes affirment traiter leur chien contre les phlébotomes tous les mois pendant l'hiver, et augmenter la fréquence l'été.



**Graphique 31 : Traitement des chiens contre les piqûres de phlébotomes.**

*d. Les propriétaires de chiens et la leishmaniose*

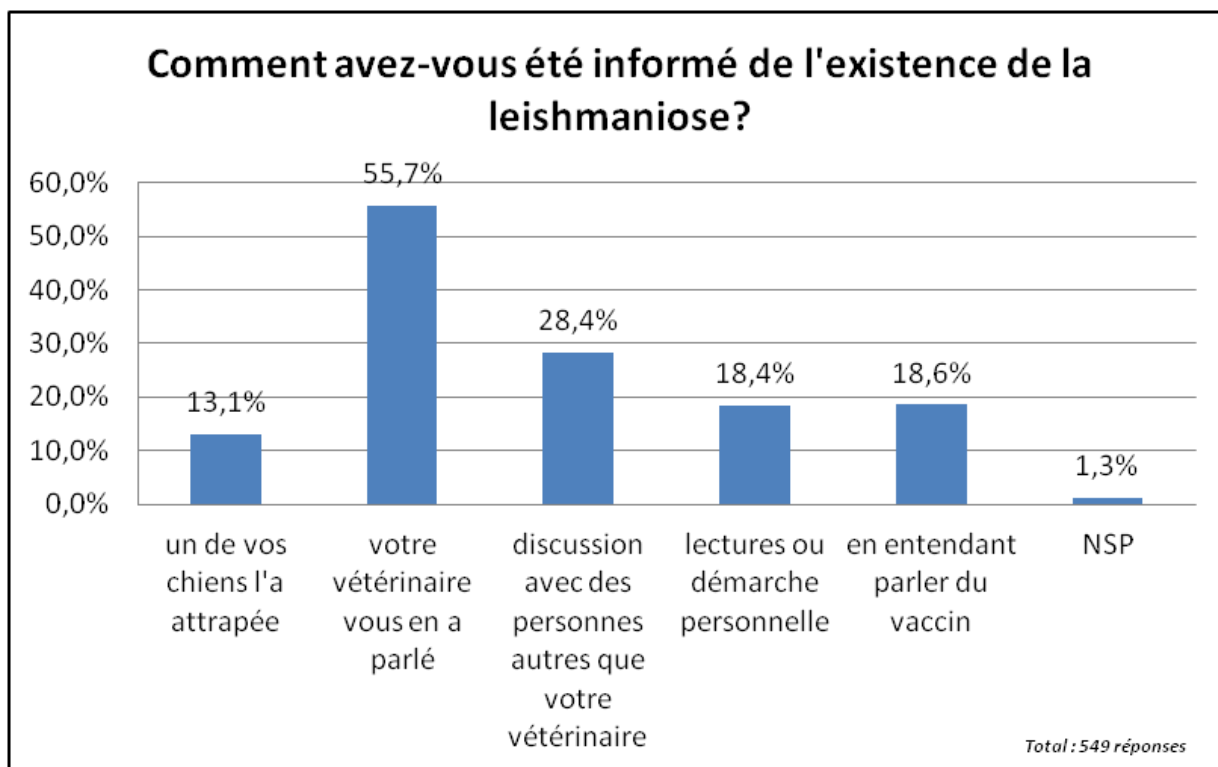
11,5% des propriétaires interrogés déclarent que l'un de leurs chiens a déjà attrapé la leishmaniose (**graphique 32**).



**Graphique 32 : Propriétaires dont les chiens ont déjà attrapé la leishmaniose.**

90,3% des personnes interrogées ont déjà entendu parler de la leishmaniose.

Pour près de 56% d'entre elles, c'est leur vétérinaire traitant qui leur a permis de découvrir cette maladie. Un peu plus d'1 personne sur 4 a été informée au cours de discussions diverses. La mise sur le marché du vaccin a permis de faire découvrir cette maladie à près de 1 personne sur 5 (**graphique 33**). 13% des propriétaires ont découvert la leishmaniose lorsque leur animal l'a attrapée.



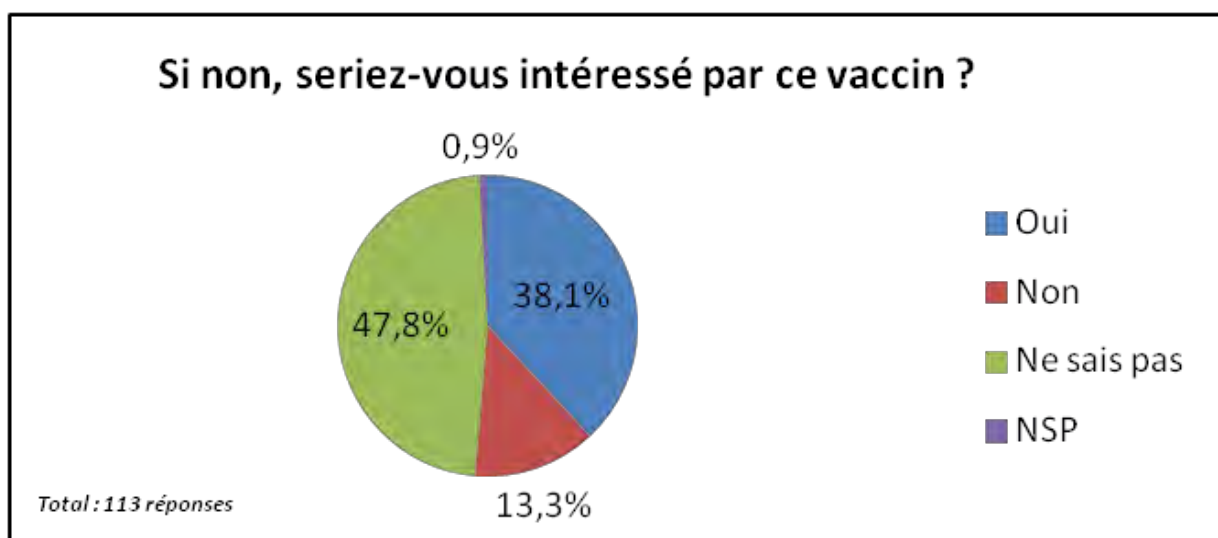
**Graphique 33 : Comment les propriétaires de chiens ont découvert l'existence de la leishmaniose.**

*e. Les propriétaires de chiens et le vaccin Canileish®*

*α. Communication autour du vaccin*

80% des propriétaires de chiens interrogés ont déjà entendu parler de Canileish®. Parmi eux, 36% affirment être intéressés par ce vaccin, 20% disent ne pas l'être, et 18% ne savent pas.

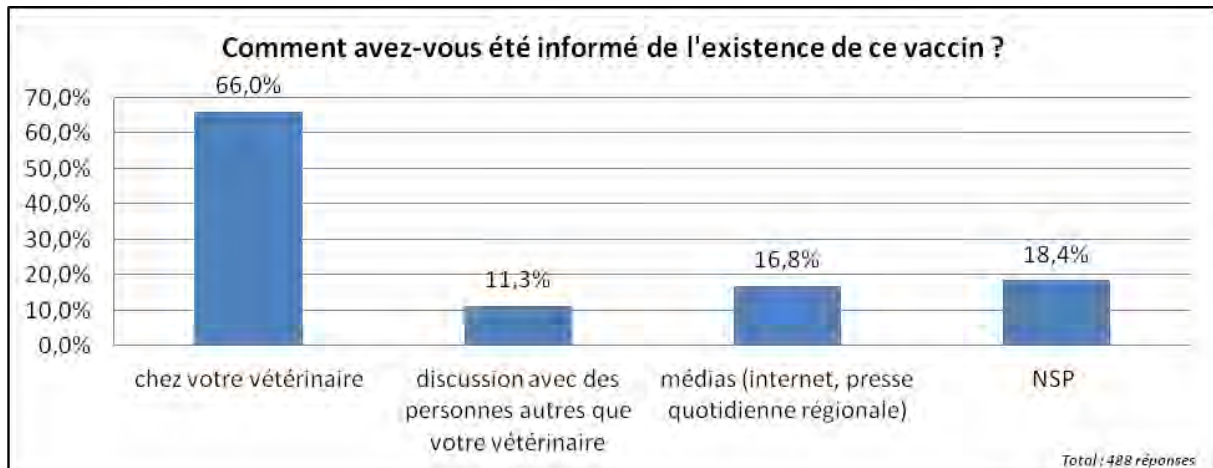
Parmi les 19% qui n'en ont jamais entendu parler, les avis sont également mitigés : 38% des personnes seraient intéressées, 13% ne le sont pas et près de 1 personne sur 2 reste dubitative (**graphique 34**).



**Graphique 34 : Personnes qui seraient intéressées par Canileish® parmi celles qui n'ont encore jamais entendu parler de ce vaccin.**

La suite du questionnaire s'adressait uniquement aux 80% des propriétaires ayant déjà entendu parler de Canileish®.

66% d'entre eux affirment avoir appris l'existence de ce vaccin chez leur vétérinaire. Les médias et le bouche-à-oreille n'ont été cités que par environ 17% et 11% respectivement (**graphique 35**).



**Graphique 35 : Comment avez-vous été informés de l'existence du vaccin Canileish® ?**

Parmi les moyens d'information à disposition dans les cliniques ou cabinets vétérinaires, les affiches et brochures sont citées dans 60% des réponses. Le personnel arrive en seconde position (49,4% des réponses). Seuls 1,2% des propriétaires disent n'avoir aucun moyen d'information chez leur vétérinaire.

### β. Etat d'esprit des propriétaires

Près de 70% des propriétaires disent être assez informés sur le vaccin. 20% pensent ne pas l'être et 10% ne s'expriment pas sur la question.

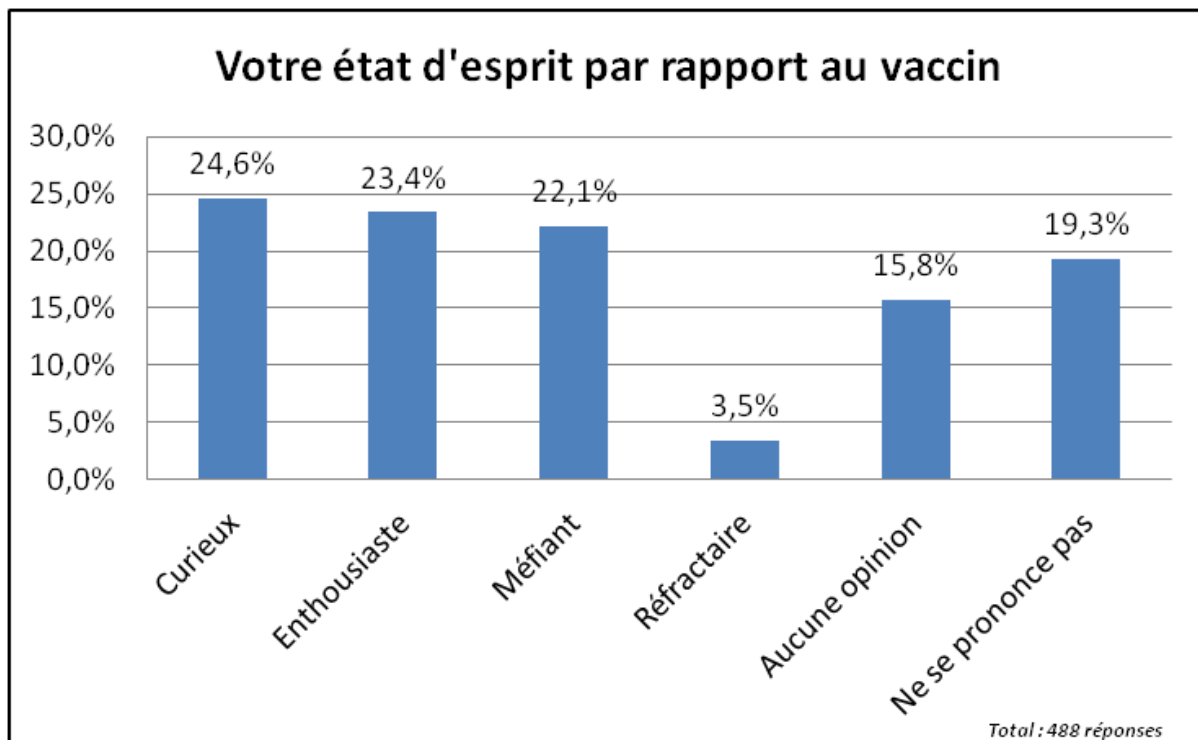
L'opinion des propriétaires sur Canileish® est assez mitigée. A la question 16, plusieurs réponses étaient possibles. Si l'on considère les propositions « curieux », « enthousiaste », « méfiant » et « réfractaire » séparément, on remarque que les trois premières recueillent un pourcentage de voix équivalent, ce qui atteste d'un réel mélange de sentiments vis-à-vis de ce nouveau vaccin. En revanche, très peu de gens sont réellement réfractaires (3,5%). Il est intéressant de noter que près de 16% des personnes ayant déjà entendu parler de Canileish® se disent sans opinion à son sujet (**graphique 36**).

Si nous voulons une vision d'ensemble, nous pouvons comptabiliser les réponses comme suit (sachant qu'une même personne peut exprimer plusieurs opinions différentes):

- « curieux » et/ou « enthousiaste » coché(s) = 1 opinion favorable.
- « méfiant » et/ou « réfractaire » coché(s) = 1 opinion défavorable.

Ainsi, une tendance se dégage plus nettement, puisque 45,5% d'opinions favorables sont émises, contre 24,8% d'opinions défavorables.

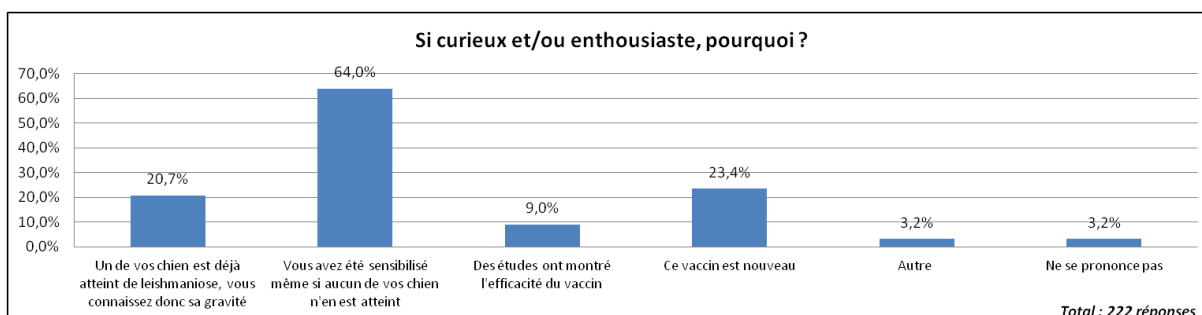




Graphique 36 : Etat d'esprit des propriétaires de chiens vis-à-vis de Canileish®.

- Propriétaires curieux et/ou enthousiastes

64% des personnes favorables à Canileish® le sont car elles ont été sensibilisées à la maladie, même si aucun de leur chien n'en est atteint. Ceci indique que la leishmaniose est plutôt bien connue des propriétaires de chiens dans la zone d'enzootie du sud de la France. 1 propriétaire sur 5 se dit curieux et/ou enthousiaste car un de ses chiens est ou a été malade : il a ainsi pu se confronter à la gravité de la maladie. 23,4% des propriétaires sont attirés par la nouveauté. En revanche, seuls 9% sont rendus optimistes par les informations concernant l'efficacité du vaccin (**graphique 37**). Parmi les réponses « autres » a été évoqué le fait qu'avec le vaccin, « oublier la pipette » est moins grave.

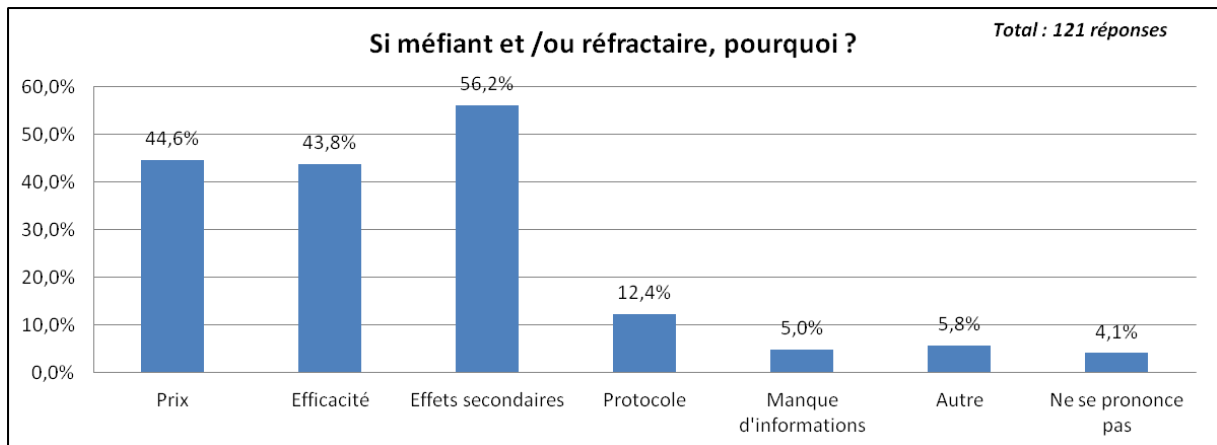


Graphique 37 : Raisons motivant des réactions positives vis-à-vis de Canileish®.

- Propriétaires méfiants et/ou réfractaires

Parmi les points négatifs soulevés par les propriétaires méfiants et/ou réfractaires, la peur ou l'expérience d'effets secondaires arrivent en première position (56,2% de voix). Le prix élevé et les doutes quant à l'efficacité réelle de Canileish® suivent de près, avec près de 44% de citations. Le protocole en 3 injections ne gêne que 12,4% de ces propriétaires. Très peu en revanche déplorent le manque d'informations, ce qui concorde avec les réponses

précédentes (**graphique 38**). Parmi les réponses « autres », on peut citer le manque de recul, la nécessité de poursuivre les traitements anti-parasitaires, et l'insouciance par rapport au risque.

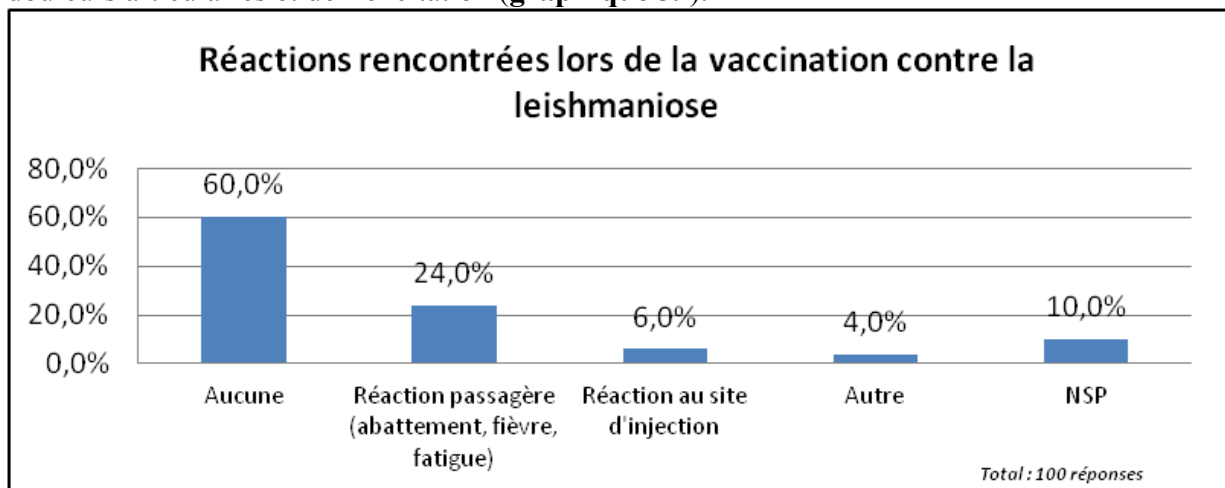


**Graphique 38 : Raisons motivant des réactions négatives vis-à-vis de Canileish®.**

### γ. La vaccination en pratique

Environ 1 an après la mise sur le marché de Canileish® en France, 20% des propriétaires connaissant ce vaccin en ont déjà fait bénéficier leur(s) chien(s). On peut ainsi déduire, grâce aux données de la question 4, que 12,6% des chiens de notre échantillon sont vaccinés contre la leishmaniose.

Pour plus de 60% des cas, aucune réaction particulière n'a été notée lors des injections. Près d'un propriétaire sur 4 a noté une réaction passagère (abattement, fatigue, fièvre). 6% rapportent une réaction au site d'injection. Parmi les réactions « autres » ont été évoquées des douleurs articulaires et de l'excitation (**graphique 39**).



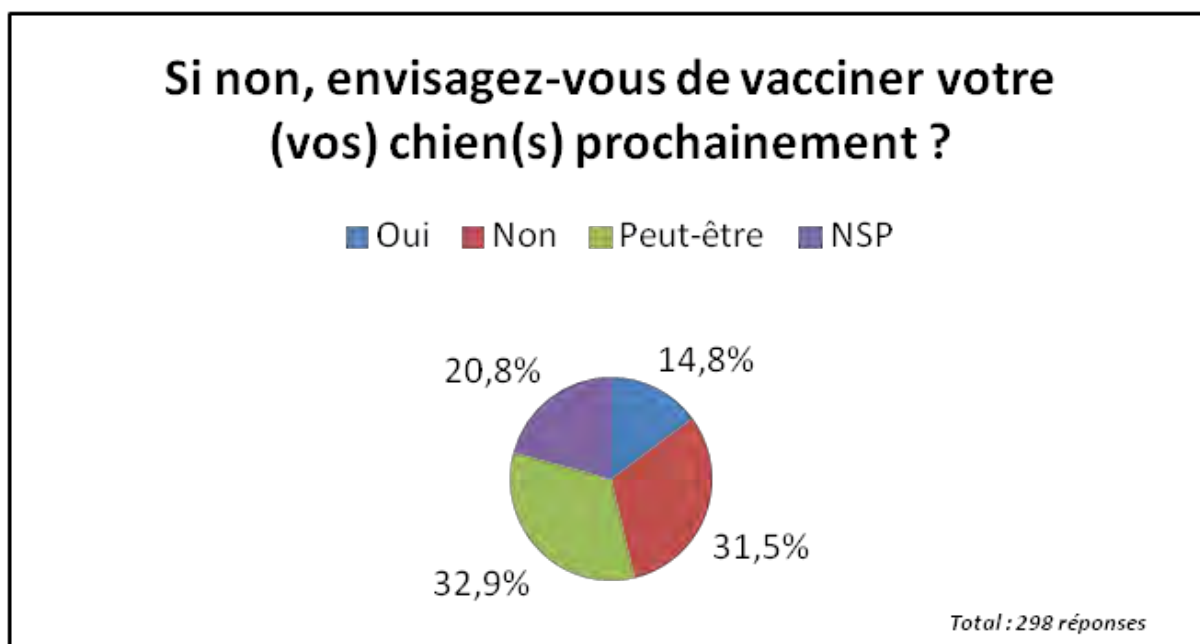
**Graphique 39 : Réactions indésirables rencontrées lors de la vaccination avec Canileish®.**

91% des personnes ayant fait vacciner leur(s) chien(s) sont prêtes à faire les rappels annuels. 89% vont continuer à les protéger par les moyens déjà mis en place (pipettes, colliers, protections dans le domicile...).

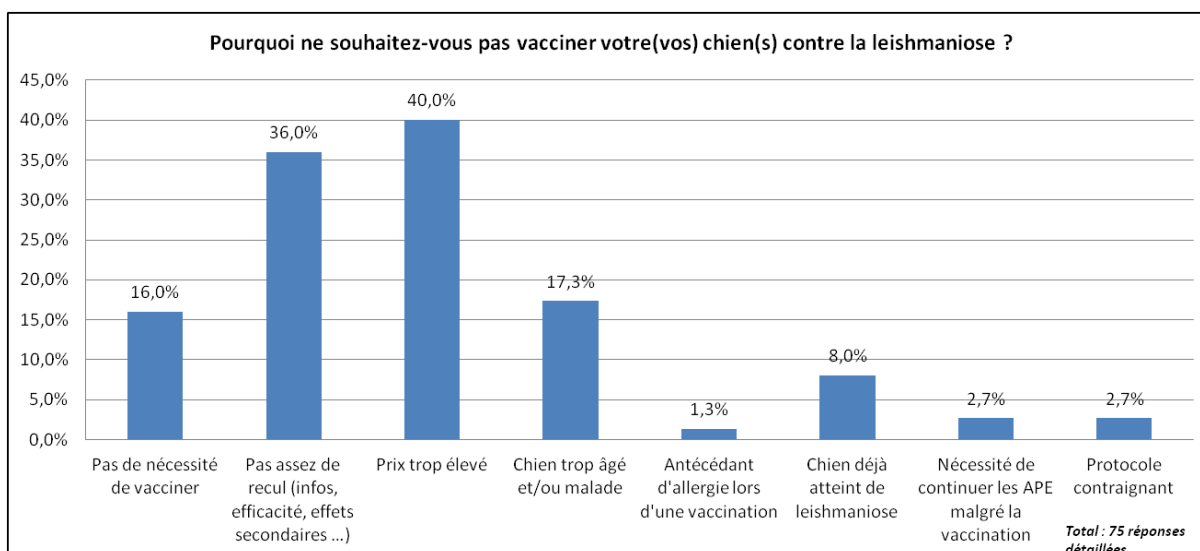
Parmi les 61,1% de personnes n'ayant pas fait vacciner leur(s) chien(s) contre la leishmaniose, les avis sont partagés (**graphique 40**) :

- 20% envisagent de vacciner leur chien dans un avenir proche. Certains souhaitent d'abord avoir plus de recul, d'autres attendent que leur chiot ait plus de 6 mois.

- Près de 1 propriétaire sur 3 ne souhaite pas vacciner. Parmi les raisons invoquées, le prix rassemble 40% des suffrages. Le manque de recul (sur l'efficacité, les effets indésirables) ou d'informations suivent de très près (36% de réponses). 17% ne vaccinent pas car leur chien est déjà trop vieux et/ou trop malade. 16% pensent que vacciner n'est pas nécessaire (prévalence trop faible de la maladie, animaux allant peu dehors, autres traitements considérés comme suffisants...). 8% ne vaccinent pas leur chien car il a déjà la leishmaniose (**graphique 41**).
- Près de 1 propriétaire sur 3 n'est pas décidé à faire vacciner son chien contre la leishmaniose ou pas.
- 15% ne se prononcent pas.



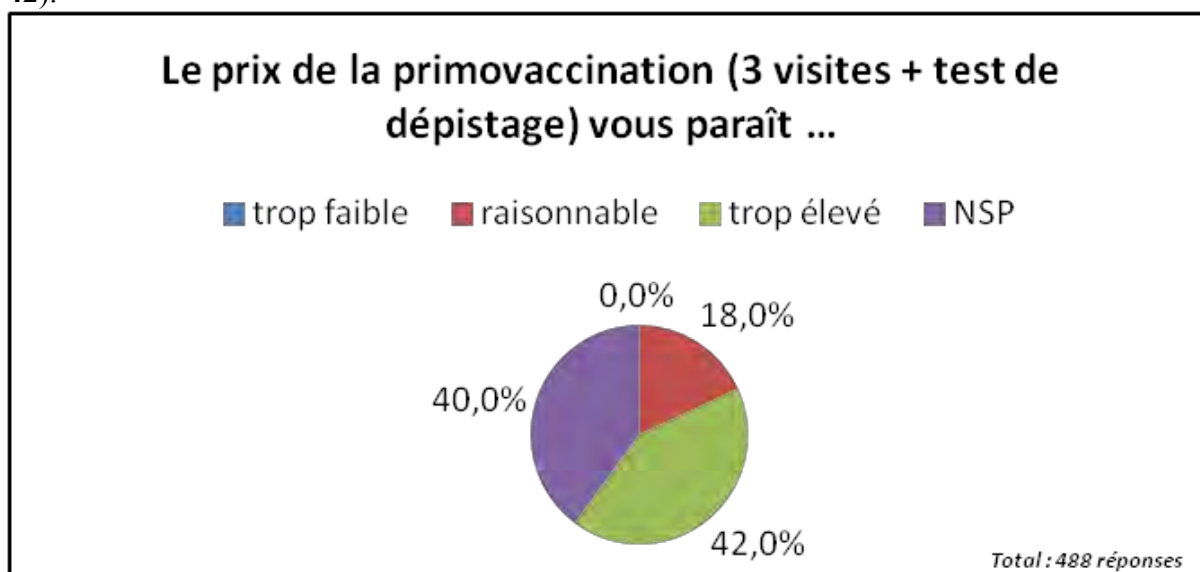
**Graphique 40 : Envisagez-vous de faire vacciner vos chiens contre la leishmaniose prochainement ?**



**Graphique 41 : Raisons poussant à ne pas vacciner contre la leishmaniose.**

δ. Prix de la primovaccination

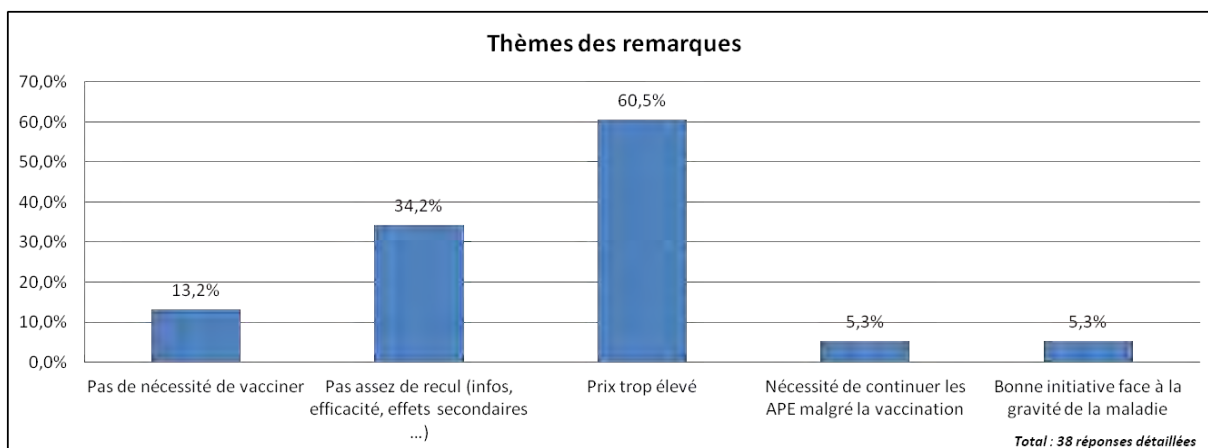
42% des propriétaires connaissant Canileish® trouvent le prix de la primovaccination trop élevé. 18% le trouvent raisonnable. 40% ne se prononcent pas sur la question (**graphique 42**).



**Graphique 42 : Prix de la primovaccination avec Canileish®.**

#### *f. Remarques générales*

Sur la totalité des questionnaires propriétaires rendus, seuls 6,2% comportaient des remarques, dont les thèmes ont été regroupés (**graphique 43**). La plupart d'entre elles sont plutôt négatives. Le prix élevé semble être un élément décisif car il fait l'objet de 60,5% des remarques. Le manque de recul gêne 34,2% des propriétaires. 13,2% ne voient pas l'utilité de vacciner. Seules 5,3% des remarques saluent la bonne initiative de la vaccination face à la maladie.



**Graphique 43 : Remarques générales.**

## **IV. DISCUSSION**

### **1. Sur la rédaction des questionnaires**

Dans cette enquête, chaque question ou groupe de question avait pour objectif d'explorer un aspect particulier de la protection contre la leishmaniose :

- La connaissance de la maladie.
- Une approche de sa prévalence au sein de la population canine.
- Les moyens de prévention utilisés/recommandés et la place de la vaccination.
- La communication autour du vaccin.
- Les premières impressions et premiers ressentis.
- Les aspects pratiques (protocole, prix, effets indésirables) : points forts et points faibles.
- En conclusion : l'avenir de la vaccination avec Canileish®.

Nous avons rédigé les questionnaires en fonction des informations que nous souhaitions obtenir, et dans un ordre qui suit notre logique. Mais malgré les relectures et les corrections, on ne s'aperçoit bien souvent des ambiguïtés et des failles que lorsqu'on lit les réponses apportées.

Ainsi, dans notre enquête, certaines questions n'ont pas pu être utilisées, d'autres ont dû être quelque peu modifiées afin de mieux correspondre aux réponses apportées. Ci-dessous sont répertoriés et détaillés les principaux points qui ont posé problème.

#### *a. Questionnaires destinés aux vétérinaires*

- Questions 2 « **Combien de chiens avez-vous en consultation en moyenne par semaine ?** » et 3 « **Combien de cas de leishmaniose avez-vous eu en 2011 ?** »

Ces questions étaient relatives à l'activité du vétérinaire qui répondait, et non de la clinique, comme il était précisé dans l'introduction. Mais la lecture de certaines réponses a introduit un doute. Nous avons donc décidé de ne pas utiliser ces questions.

- Question 15 « **Pour la primovaccination, proposez-vous un forfait/une facilité de paiement, ou les clients paient-ils chaque acte indépendamment des autres ?** »

La difficulté de cette question semi-ouverte a été de distinguer ce qui était réellement une facilité de paiement de ce qui ne l'était pas. Par exemple, le paiement en trois fois n'a pas été considéré comme une facilité de paiement puisqu'il signifie simplement que les clients ont payé à chaque consultation.

- Question 17 « **Si vous n'avez pas le vaccin, allez-vous le faire ?** [c'est-à-dire continuer à proposer la vaccination, ndlr] »

Elle arrivait après la 16 « **Suite à votre première expérience, allez-vous continuer à proposer la vaccination contre la leishmaniose ?** ». Nous nous sommes rapidement rendu compte qu'elle était mal posée et dure à comprendre, car nos confrères ne savaient pas s'ils devaient y répondre ou pas. Il a effectivement été difficile de déterminer à qui elle s'adressait réellement, puisque la question 16, avec l'expression « suite à votre première expérience », englobait déjà tous les cas de figure : vétérinaires avec/sans vaccin, qui proposent/ne proposent pas la vaccination, qui ont déjà/non jamais vacciné. Il a donc été décidé de ne pas compter cette question 17.

#### *b. Questionnaires destinés aux propriétaires de chiens*

- Questions 5 « **Vous vivez dans...** » et 6 « **Où vivent vos chiens de mai à octobre ?** »

Le but de ces questions était de quantifier la population canine la plus à risque de piqûre par les phlébotomes, c'est-à-dire ayant accès à l'extérieur et vivant à l'extérieur aux périodes d'activité optimale de ces derniers.

Initialement, pour chacune de ces deux questions, il était prévu de comptabiliser une réponse par questionnaire, c'est-à-dire une réponse par propriétaire. Mais plusieurs éléments nous ont indiqué qu'il était plus logique de comptabiliser les réponses en termes de nombre de chiens : en particulier à la question 6, lorsqu'une personne nous a précisé que ses deux Yorkshire étaient dedans jour et nuit, alors que son Beauceron restait dehors. La question 4 « Combien de chiens possédez-vous ? » nous a pour cela été fort utile.

Quelques autres remarques sont à faire quant à l'interprétation de chacune de ces questions.

A la question 5, les propriétaires devaient indiquer **leur** lieu de vie : « appartement », « maison avec jardin/terrasse » ou autre. Nous supposions en effet que les animaux vivaient au même endroit que leur maître. Cette supposition s'est révélée exacte dans la plupart des cas. En effet, si une personne vit en appartement, ses chiens aussi, et ils n'ont pas trop accès à l'extérieur la nuit. En revanche, si en propriétaire vit en maison avec jardin ou terrasse, ses chiens ont logiquement plus facilement accès à l'extérieur, même si cela ne signifie pas qu'ils vivent dehors (en cela, c'est la réponse à la question 6 qui donne le plus d'informations).

Cependant, un propriétaire a répondu qu'il vivait dans une maison mais que ses chiens vivaient dans un chenil sur un terrain. Nous avons donc comptabilisé la réponse correspondant aux chiens et non au propriétaire.

A cette même question, nous avons également dû interpréter les réponses « autres » en fonction du sens qu'il fallait en donner. Par exemple, les réponses « appartement avec jardin » étaient comptabilisées au même titre que « maison avec jardin », et la réponse « maison de village sans jardin » a été comptabilisée au même titre que « appartement », car la possibilité d'accès à l'extérieur est identique.

Concernant chacune des sous-questions 5,6a et 6b, une seule réponse était attendue. Cependant, là encore, nous avons dû adapter notre interprétation. En effet, un nombre non négligeable de personne a coché deux propositions, ce qui pouvait avoir plusieurs significations :

- Soit que l'ensemble de leurs chiens n'avaient pas de lieu de vie principale défini,
- Soit qu'ils avaient plusieurs chiens aux lieux de vie différents.

Quoi qu'il en soit, l'interprétation pour nous fut la même : nous avons rajouté une proposition « les deux » afin de prendre en compte cette donnée.

○ Question 9 « **L'un de vos chiens a-t-il déjà attrapé la leishmaniose ?** »

11,5% ont répondu positivement. Afin de donner une estimation de la prévalence de cette maladie parmi la population canine, nous demandions à ces propriétaires de préciser le nombre de leurs chiens touchés. La prévalence aurait ainsi été déterminée, puisque nous connaissions la taille de l'échantillon (1012 chiens déclarés à la question 4). Cependant, plusieurs personnes ont affirmé ou laissé sous-entendre que certains de leurs chiens avaient été atteints par cette maladie mais qu'il ne s'agissait pas de leurs chiens actuels (par exemple, 1 chien déclaré à la question 4 mais 2 chiens ayant eu la leishmaniose à la question 9). Nous n'avons donc pas pu établir nous servir de ces données pour établir une estimation de la prévalence de la leishmaniose canine en 2012 en zone d'endémie.

○ Questions 11 « **Avez-vous déjà entendu parler du vaccin contre la leishmaniose ?** » et suivantes.

La question 12 était destinée uniquement à ceux qui avaient répondu « non » à la question 11, et leur demandait s'ils seraient intéressés par ce vaccin. La suite du questionnaire, relative à la

perception de Canileish®, s'adressait de manière logique uniquement à ceux qui avaient répondu « oui » à la question 11.

Cependant, de nombreuses confusions ont été notées dans la manière d'enchaîner les réponses à ces questions.

D'une part, 74% des personnes ayant déjà entendu parler du vaccin, se sont exprimées à la question 12. Nous n'avons pas pu négliger cet afflux de réponses, que nous avons donc intégrées à nos données. D'autre part, 48% des propriétaires ayant répondu « non » à la question 11 se sont exprimé sur une ou plusieurs des questions suivantes : ces réponses, incomplètes et infondées (puisqu'elles font appel à l'expérience personnelle des gens vis-à-vis de Canileish®), n'ont pas été comptabilisées.

- Questions 17 « **Avez-vous fait vacciner vos chiens contre la leishmaniose ?** » et suivantes.

Nous avons été confrontés à un problème similaire au précédent. Le « si oui » indiquait que les questions 18 à 22 étaient destinées aux personnes ayant répondu à la question 17 par la positive. Un « si non » était placé avant la question 22 pour les autres. Pourtant, un nombre important de propriétaires ayant répondu « oui » ont répondu à la question 22, et un nombre moins important ayant répondu « non » ou ne se prononçant pas se sont prononcés sur une ou plusieurs des questions 18 à 21. Dans les deux cas, ces réponses n'ont pas été comptabilisées.

Ces difficultés rencontrées aux questions 11 et 17 mettent le doigt sur la complexité d'incorporer des conditions dans une enquête. Même si la mise en forme nous semble adaptée, il est judicieux de faire tester l'enchaînement des questions par plusieurs personnes extérieures afin de voir si leur logique suit la nôtre.

Tout ceci nous incite à dire que dans un souci de rigueur, le recueil et la compilation manuels des réponses se révèlent bien plus justes qu'un recueil informatique. Une personne physique peut, tout en restant objective, déceler certaines failles comme un manque de logique dans la nature et l'enchaînement des réponses, et intervenir. Un ordinateur est bien évidemment objectif, mais il ne perçoit pas ces subtilités. La compilation informatique fait donc gagner beaucoup de temps, surtout lorsque le nombre de questionnaires renvoyés est très élevé, mais il fait perdre du sens.

Finalement, les statistiques ne font pas apparaître les difficultés rencontrées, mais ces dernières sont importantes à prendre en compte pour l'enrichissement personnel de la personne à l'initiative de l'enquête.

## **2. Sur le territoire ciblé**

Nous avons choisi de limiter le territoire d'échantillonnage à 22 départements du sud de la France :

- Situés en zone d'enzootie de leishmaniose canine.
- Dans lesquels le nombre maximal de cas déclarés par clinique et par an est supérieur ou égal à 11.

En effet, c'est tout particulièrement dans la zone où la leishmaniose sévit le plus, qu'un nouveau moyen de prévention comme la vaccination doit faire ses preuves. C'est là que la vaccination est censée avoir le plus d'impact sur l'incidence et la prévalence de la maladie, si toutefois elle est pratiquée correctement et à large échelle. Il est donc primordial de savoir si le vaccin commercialisé correspond aux attentes des vétérinaires et des propriétaires vivant sur cette partie du territoire.

Une enquête nationale n'aurait pas été pertinente à notre sens, car on peut supposer que la majeure partie des gens interrogés hors zone d'endémie se seraient sentis beaucoup moins concernés.

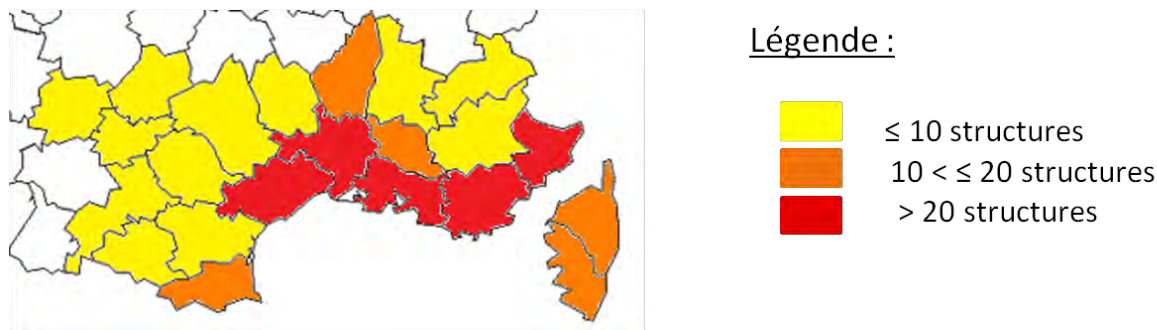
### 3. Sur la méthode d'échantillonnage

#### *a. 1<sup>er</sup> degré : choix empirique des 600 cliniques/cabinets*

Le laboratoire a décidé de ne pas contacter un échantillon aléatoire de structures vétérinaires, mais de sélectionner les 300 plus grosses consommatrices de Canileish® d'une part, et les 300 plus grosses structures en termes de chiffre d'affaire et de vétérinaires (hors les 300 précédentes) d'autre part.

Une première question vient à l'esprit : ce choix était-il motivé par une raison quelconque ou des attentes particulières de la part du laboratoire ? Une volonté de cibler une certaine population de vétérinaires ? Si l'on s'attache à des considérations épidémiologiques, ces 600 structures ne sont pas représentatives de l'ensemble des vétérinaires de la zone d'enzootie. Il serait également intéressant de mieux caractériser les 300 « grosses consommatrices de Canileish® » en termes de chiffre d'affaire et de nombre de vétérinaires, et de savoir sur quel critère le laboratoire s'est appuyé précisément pour inclure ou exclure des cliniques de cette catégorie. Cela permettrait par exemple de savoir si la consommation de vaccin peut être corrélée à la taille et/ou l'activité d'une clinique.

D'autre part, si nous nous intéressons à la répartition des cliniques « grosses consommatrices » du vaccin dans la zone d'enzootie étudiée (**annexe 9** et **carte 13**), nous remarquons qu'une corrélation peut être établie avec la répartition des cas de leishmaniose en 2011 (**cartes 11 et 12**), ce qui nous amène à penser que la consommation de vaccin est accrue dans les départements les plus touchés par la maladie.



**Carte 13 :** Répartition des structures vétérinaires classées comme "plus gros consommatrices de Canileish®" par le laboratoire Virbac, dans les 22 départements de l'enquête.

Enfin, sur le listing Excel fourni par le laboratoire, nous nous sommes rendu compte d'une erreur : au lieu de la répartition 300/300 annoncée, nous avons 299 structures « grosses consommatrices » du vaccin et 301 autres grosses structures (**annexe 9**). Le total étant égal à 600, nous avons émis l'hypothèse d'une erreur de statut, l'une des 301 grosses structures étant en fait une grosse consommatrice. La rédaction de la thèse était terminée au moment de cette découverte. Les modifications à fournir auraient donc nécessité un temps considérable par rapport à l'impact minime sur les données obtenues. Par conséquent, nous avons décidé, en accord avec notre professeur encadrant, de ne pas chercher l'origine de cette erreur, et de ne pas en tenir compte.

#### *b. Introduction d'un 2<sup>nd</sup> degré : sélection aléatoire des praticiens*



Une des premières questions que nous nous sommes posées a concerné l'unité d'échantillonnage : devait-elle être la clinique/le cabinet vétérinaire ou le praticien ? La réponse a été apportée par les questionnaires eux-mêmes. En effet, la plupart des questions posées font appel à l'expérience personnelle du clinicien vis-à-vis du vaccin, à son opinion ainsi qu'à celle de ses clients. De ce fait, il est rapidement devenu évident que chaque questionnaire serait représentatif d'un vétérinaire et non d'une clinique.

Pour des raisons logistiques, il n'était pas possible d'envoyer à chaque structure vétérinaire sélectionnée le nombre de questionnaires correspondant au nombre exact de vétérinaires canins/mixtes en exercice dans ladite structure. En effet, cela aurait nécessité dans un premier temps de recenser ces vétérinaires, puis de répartir manuellement les questionnaires imprimés dans les différentes enveloppes (car pas de programmation d'impression possible), ce qui aurait été extrêmement coûteux en temps et en énergie. Il a donc été décidé d'envoyer un seul questionnaire vétérinaire par clinique, en précisant bien dans l'énoncé de présentation, que « les informations demandées sont relatives à l'activité du vétérinaire et non celle de la clinique ». Cela permettait d'apporter un second degré d'échantillonnage.

Ce dernier, aléatoire en théorie, ne l'a pas forcément été en pratique. En effet, nous pouvons supposer que dans certains cas, le vétérinaire qui a rempli le questionnaire était le plus intéressé par l'étude, ou le plus disponible pour y répondre.

Deux structures échantillonnées nous ont renvoyé le questionnaire vétérinaire en plusieurs exemplaires. Il avait en effet été photocopié et rempli par tous les vétérinaires présents. Cette démarche peut être la conséquence d'une mauvaise compréhension de la méthode d'échantillonnage, mais aussi celle d'une volonté pour chacun de s'exprimer, ce qui n'est pas possible avec un seul questionnaire.

Ces réponses surnuméraires ont été comptabilisées et interprétées de manière identique aux autres. Leur comparaison mis en évidence certaines similitudes évidentes au sein d'une même clinique (mêmes tarifs appliqués, mêmes moyens d'information...). Elle a cependant permis de se rendre compte des divergences d'opinion et d'expérience entre vétérinaires (effets secondaires rencontrés).

Ceci a permis d'appuyer et de justifier notre choix concernant l'unité d'échantillonnage.

#### **4. Sur les réponses**

Le taux de réponse (13,8%) est assez faible mais a permis de recueillir suffisamment de questionnaires (86 questionnaires vétérinaires et 614 questionnaires propriétaires) pour pouvoir proposer une interprétation valable des données obtenues.

Dans la majorité des cas, les vétérinaires ont renvoyé leur questionnaire, mais une partie seulement des questionnaires clients. Les ont-ils perdus ? Ou n'ont-ils pas eu assez de temps pour les faire remplir ?

Si l'on s'intéresse à l'origine des réponses, on ne peut pas établir de lien entre le pourcentage de questionnaires renvoyés par département, et la prévalence de la leishmaniose : en effet, les départements qui ont le mieux répondu ne sont pas forcément ceux dans lesquels la prévalence est la plus élevée.

#### **5. Sur la perception de Canileish®**

La leishmaniose est une maladie qui revêt une importance particulière dans le sud de la France. Elle est connue par près de 9 propriétaires de chiens sur 10.

##### *a. Prévention de la leishmaniose*

Aucun moyen de prévention n'étant efficace à 100%, une gestion multimodale est nécessaire. Une grande partie des vétérinaires et des propriétaires interrogés applique ce principe. Ainsi, plus de 1 propriétaire sur 4 protège ses chiens en associant collier et pipette. Ceci permet de renforcer la protection en termes d'efficacité et de durée : en cas d'oubli de renouvellement de l'un des deux, la protection est toujours conférée par l'autre.

Les anti-parasitaires externes restent le moyen le plus recommandé aux propriétaires. Une majorité de ces derniers dit traiter régulièrement ses chiens contre les phlébotomes, par l'application de pipettes et/ou la pose de collier.

Cependant, la lecture des réponses aux différentes sous-parties de la question 8 a permis de soulever les points faibles, manques et maladroesses dans la connaissance et l'application des moyens de prévention des piqûres de phlébotomes. Deux aspects majeurs sont concernés :

- Les spécialités actives contre les phlébotomes.
- La fréquence correcte de renouvellement des moyens mis en place (application des pipettes, pose des colliers).

La question 8a permettait aux personnes affirmant traiter leurs chiens régulièrement contre les phlébotomes, de préciser par quel moyen et à quelle fréquence. Nous proposons « collier », « pipette » ou « autre » sans plus de précision sur le nom des spécialités. Pourtant, certains propriétaires ont écrit « Frontline® », ce qui indique qu'ils ne savent pas que cette spécialité n'est pas efficace dans la lutte contre les phlébotomes. Ceci nous a menés à deux conclusions :

- Nous ne pouvons pas accorder une totale confiance aux réponses cochées quant à l'efficacité de la protection par collier ou pipette.
- Il est utile, en pratique, d'informer les propriétaires sur le spectre d'action des produits qu'on leur vend.

Concernant la fréquence de renouvellement de la protection, au vu de la diversité des réponses à la question libre, il apparaît clairement qu'un nombre non négligeable de propriétaires ne traite pas ses chiens assez régulièrement pour leur assurer une protection suffisante et continue. A cela, plusieurs, raisons peuvent être invoquées : oublis, manque de moyens, manque d'informations. Là encore, bien que les emballages des spécialités indiquent la durée de protection, le vétérinaire et l'ASV se doivent de répéter l'information lorsqu'ils délivrent le produit.

Parmi les mesures sanitaires, faire dormir son chien à l'intérieur de mai à octobre est primordial. C'est le cas pour plus de 3 chiens sur 4.

L'utilisation de moustiquaires est très répandue. Il convient de rappeler que leurs mailles doivent être très fines car les phlébotomes mesurent moins de 5 mm. Des moustiquaires imprégnées de répulsifs (pyréthrinoïdes) se révèlent très efficaces.

D'autres méthodes ont été citées : les moins onéreuses restent l'élimination des eaux stagnantes et la ventilation.

#### *b. Communication autour de Canileish®*

Un an après sa mise sur le marché français, ce vaccin occupe déjà une place importante dans les recommandations faites par les vétérinaires. La campagne de communication a été efficace puisque tous les confrères interrogés, ainsi que 80% des propriétaires de chiens, en ont déjà entendu parler. D'après nos confrères, le démarchage arrive en tête des moyens d'information pour les vétérinaires. Ils sont quant à eux des interlocuteurs privilégiés pour leurs clients : plus de 9 sur 10 ont mis en place des moyens d'information dans leur clinique (essentiellement sous forme de flyers ou de panneaux d'affichage), plus de 9 sur 10 en ont spontanément parlé. A l'inverse, les clients n'hésitent

pas à les solliciter (les « gros consommateurs » de Canileish® » étant plus sollicités que les autres). En cela, les objectifs de communication fixés par Virbac semblent être atteints.

La plupart des vétérinaires considèrent être assez informés, même si des interrogations persistent. Leurs avis sur Canileish® sont majoritairement favorables, la première raison étant l'importance et la gravité de la maladie. Les points négatifs sont en premier lieu le prix, puis les doutes sur l'efficacité et la crainte d'effets indésirables.

Selon les vétérinaires, les réactions des propriétaires sont également positives, même si les « gros consommateurs » du vaccin décèlent plus de réactions négatives que leurs confrères. La connaissance de la maladie (par expérience personnelle ou sensibilisation) motiverait les gens à vacciner, alors que le prix serait un frein majeur.

Les réponses des propriétaires vont en partie dans ce sens. Cependant, le prix arrive en deuxième position dans les points négatifs, le premier étant la crainte d'effets indésirables.

Les contraintes liées au protocole de primovaccination ne semblent pas poser trop de problèmes.

### *c. La vaccination en pratique*

Pour rappel, la primovaccination avec Canileish® consiste en trois injections à trois semaines d'intervalle, à partir de l'âge de 6 mois, et séparées des autres valences vaccinales. Les rappels sont annuels. Seuls les chiens séronégatifs sont vaccinés.

1 an après la mise sur le marché de Canileish®, 12,6% des chiens de notre échantillon sont vaccinés, et 9 vétérinaires sur 10 disent avoir déjà vacciné contre la leishmaniose. Que ce soit du côté des vétérinaires ou de celui des propriétaires, peu de réactions secondaires ont été notées, mises à part des réactions bénignes locales ou générales. Parmi les raisons démotivant les propriétaires à vacciner, le prix arrive en première position, ce qui coïncide avec les réponses précédentes. Le manque de recul vient en seconde position. Du côté des vétérinaires, le prix élevé est également la difficulté majeure. Il est en moyenne de 207 euros pour les trois injections et le test de dépistage rapide. Un maximum de 300 euros a été noté.

Près de 9 personnes sur 10 ayant initié une primovaccination, souhaitent faire les rappels annuels, tout en conservant les autres moyens de prévention. Nos confrères sont également motivés à continuer à proposer la vaccination.

## **6. Structures « grosses consommatrices de Canileish® » versus « autres grosses structures » : quel impact sur les réponses obtenues ?**

Il nous a paru important de savoir quel impact avait le fait d'appartenir ou pas à une structure considérée comme « grosse consommatrice de Canileish® ». La différence entre les deux groupes a été significative sur certains points :

- Les besoins : la clientèle des « gros consommateurs » compte plus de propriétaires ayant ou ayant eu au moins un chien atteint de leishmaniose.
- La communication : les « gros consommateurs » sont significativement plus sollicités. Ils parlent plus de la maladie et mettent en place des moyens d'information plus conséquents.
- La place du vaccin dans les recommandations faites aux clients : ce dernier occupe une place plus importante pour les « gros consommateurs ».
- La pratique : les « gros consommateurs » initient plus de protocoles de primovaccination, détectent plus d'effets secondaires, mettent en place plus de facilités de paiement.

- Les opinions concernant Canileish® : les « gros consommateurs » sont plus enthousiastes, les autres plus curieux. On peut expliquer cela par la différence d'expérience : la curiosité prévaut lorsqu'on n'est pas très familier avec le vaccin, et peut se changer en enthousiasme lorsqu'on en est satisfait.

Au contraire, l'appartenance à l'un des groupes n'a pas joué sur la perception de l'information reçue du laboratoire. On aurait pu penser que les vétérinaires qui vaccinent le plus ont été mieux informés que les autres. Ce n'est pas le cas : tous les vétérinaires disent être satisfaits de l'information reçue.

Enfin, des résultats inattendus ont été observés, concernant :

- La perception de l'opinion des clients : les « gros consommateurs de Canileish® » décèlent plus de réactions négatives que les autres. Pourtant, ce sont eux qui vaccinent le plus. La réaction des clients ne semble donc pas être un élément déterminant dans la quantité de vaccins consommés.
- Les difficultés rencontrées lors de la vaccination : on aurait pu penser que les vétérinaires vaccinant le plus étaient aussi ceux qui rencontraient le moins de difficultés (les difficultés rencontrées jouant sur la motivation à continuer). Au contraire, les « gros consommateurs de Canileish® » rencontrent plus d'effets indésirables que les autres. Cela peut être corrélé au nombre de vaccinations réalisées. Mais ces effets indésirables, principalement de l'apathie et de la fièvre passagères, ainsi qu'une douleur au site d'injection, ne semblent pas diminuer leur intention de poursuivre l'utilisation de Canileish® (98,1% des « gros consommateurs » du vaccin affirment vouloir continuer de proposer la vaccination contre la leishmaniose à leurs clients).

## CONCLUSION

Cette enquête s'est intéressée à l'accueil réservé à Canileish®, premier vaccin commercialisé en Europe contre la leishmaniose canine, dans la zone la plus touchée sur le territoire de France métropolitaine.

Les résultats sont encourageants. D'une part, il apparaît clairement qu'une grande partie des propriétaires de chiens est sensible à la gravité de cette maladie et tente de mettre en œuvre des moyens pour la combattre, même si la pertinence de ces moyens reste à améliorer.

Les vétérinaires apparaissent quant à eux comme des interlocuteurs privilégiés dans l'information et le conseil.

Les données obtenues auprès de nos confrères et de leurs clients concordent. Elles mettent en évidence de bons et fructueux efforts de communication, mais aussi les attentes de chacun. En particulier, le prix élevé de la primovaccination est un élément négatif majeur cité par les vétérinaires et leurs clients.

Même si la curiosité et l'enthousiasme sont de mise, un certain nombre de personnes attend d'avoir plus de recul sur les effets indésirables et l'efficacité du vaccin avant de s'engager. Cette réaction est transposable à toute nouvelle molécule mise sur le marché, que ce soit en médecine humaine ou vétérinaire.

Il est fort probable que de futures enquêtes, dans les années à venir, s'attachent à mesurer l'impact de la vaccination sur l'incidence de la leishmaniose canine en France, et éventuellement ses répercussions sur le nombre de cas humains. Mais là encore, une grande prudence est de mise dans l'interprétation. En effet, comme souvent avec les maladies vectorielles, et comme nous avons pu le voir précédemment, l'épidémiologie des leishmanioses est complexe. De nombreux acteurs entrent en jeu dans le maintien et la transmission de cette parasitose. La présence et la survie de ces acteurs dans un lieu donné, leurs interactions, ainsi que leur migration, dépendent elles aussi de certains facteurs (environnementaux, comportementaux...). La maîtrise efficace de la maladie passe donc par l'utilisation concomitante de plusieurs moyens de lutte, directs et indirects. La vaccination étant intégrée dans un plan de lutte, il sera donc peut-être délicat d'évaluer son impact propre dans l'évolution de l'incidence de la maladie.



**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussignée, **Séverine BOULLIER**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **GRANIER Marie** intitulée « *Etude de la perception du vaccin contre la leishmaniose par les vétérinaires et les propriétaires de chiens en zone d'enzootie sur le territoire de France métropolitaine.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.


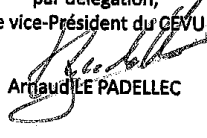
Fait à Toulouse, le 26 septembre 2013  
**Docteur Séverine BOULLIER**  
 Enseignant chercheur  
 de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Vu :  
 Le Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
 Professeur Alain MILON

Vu :  
 Le Président du jury :  
 Professeur Alexis VALENTIN

Vu et autorisation de l'impression :  
 Le Président de l'Université Paul Sabatier  
 Professeur Bertrand MONTHUPET  
 Le Président de l'Université Paul Sabatier  
 par déléation,  
 Le vice-Président du CEVU

   
 Arnaud LE PADELLEC

**Mlle GRANIER Marie**  
 a été admis(e) sur concours en : 2008  
 a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012  
 a validé son année d'approfondissement le : 12/07/2013  
 n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.



## **ANNEXES**

**Annexe 1 : Exemple de publicité Canileish® dans la presse régionale (Midi Libre, 2012)**

PUBLICITÉ

# BONNE NOUVELLE

www.virbac.fr

TOUTE L'ACTUALITÉ 2012 SUR LA LEISHMANIOSE / NUMÉRO 1 / ÉDITION CARROS

## La vaccination contre une maladie mortelle pour votre chien est possible!

**Votre chien vit en zone à risque de LEISHMANIOSE canine.**  
**Cette carte décrit le niveau de risque encouru par votre compagnon.**  
 Nombre maximal de cas déclarés par clinique et par an :

0 à 10	11 à 20	Plus de 20
--------	---------	------------

Ref : Le Point Vétérinaire / Octobre 2011 / N° 319

**Des chercheurs ont mis au point, pour la première fois, une technologie vaccinale contre la leishmaniose canine en Europe.**

Après 20 ans de recherche, des scientifiques français ont mis au point une technologie vaccinale innovante<sup>1</sup> contre la leishmaniose canine.

Cette infection mortelle se transmet par l'intermédiaire de piqûres de phlébotomes infectés, souvent appelés à tort moustiques.

En Europe méridionale, de nombreux chiens sont exposés de façon permanente à la leishmaniose et peuvent développer les symptômes graves de cette maladie qui se propage maintenant vers le nord de l'Europe. Jusqu'à présent, les méthodes préventives contre la leishmaniose canine consistaient à diminuer les foyers de phlébotomes (insectes semblables aux moustiques), limiter les possibilités de contact entre le chien et les phlébotomes et protéger l'animal avec un insecticide (répulsif contre les phlébotomes) en spot-on, collier. En dépit de ces mesures disponibles, la leishmaniose canine reste une menace sérieuse. Grâce à la vaccination contre la leishmaniose canine, les chiens bénéficient désormais d'une nouvelle méthode de protection permanente face à cette maladie.

**Nouveauté : vous pouvez à présent vacciner votre chien contre la leishmaniose canine, une maladie mortelle et incurable.**

1. Ce vaccin a été mis au point par BVT (Bio Veto Test), une filiale en propriété exclusive de Virbac, en coopération avec l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement), et les équipes de R&D du groupe Virbac. Ce projet repose sur une invention brevetée de l'IRD relative à la culture des leishmanies, dont l'IRD a concédé une licence exclusive à BVT pour le marché vétérinaire.

**Réduisez les risques. Vaccinez votre chien.**

Renseignez-vous auprès de votre vétérinaire sur la vaccination contre la leishmaniose canine.

*La santé animale est notre passion*



**Annexe 2 : Brochure publicitaire Canileish® disponible chez les vétérinaires**

# ACTUS CLINIQUE

LEISHMANIOSE / INFORMATIONS DESTINÉES AUX PROPRIÉTAIRES DE CHIEN / ÉDITION CARROS

## Votre chien est-il protégé ?

Des insectes semblables à des moustiques transmettent une infection potentiellement mortelle



Réduisez les risques. Vaccinez votre chien.



# BONNE NOUVELLE

LEISHMANIOSE / INFORMATIONS DESTINÉES AUX PROPRIÉTAIRES DE CHIEN / ÉDITION CARROS

## Il existe désormais un vaccin contre une maladie mortelle pour votre chien !

Des chercheurs ont mis au point le premier vaccin contre la leishmaniose canine en Europe.

Après 20 ans de recherche, des scientifiques ont mis au point un vaccin contre la leishmaniose canine fondé sur le développement d'une technologie vaccinale innovante'. Ce vaccin permet de réduire de

manière sûre, efficace et durable le risque de voir votre chien développer les symptômes de la leishmaniose. Ce vaccin, attendu depuis longtemps, est à présent disponible chez votre vétérinaire.



Réduisez les risques. Vaccinez votre chien.

Renseignez-vous auprès de votre vétérinaire sur la vaccination contre la leishmaniose canine.



La santé animale est notre passion

## Annexe 3 : Exemple de publicité Canileish® dans la presse vétérinaire spécialisée (l'Essentiel n°242, 16-22 février 2012)

# LEISHMAN NEWS

www.virbac.fr

TOUTE L'ACTUALITÉ 2011 SUR LA LEISHMANIOSE / NUMÉRO 1 / ÉDITION CARROS

## Canileish® - le premier vaccin contre la leishmaniose canine en Europe

Un vaccin technologiquement innovant est à présent disponible pour les cliniques vétérinaires

Canileish® est le fruit de 20 ans de collaboration entre scientifiques de haut niveau. Ces efforts dans la recherche de pointe ont abouti au développement d'une technologie vaccinale innovante<sup>1</sup>. Cette nouvelle technologie permet d'obtenir une protection immunitaire inédite. Les études<sup>2</sup> ont montré que le vaccin stimule spécifiquement une réponse immunitaire cellulaire efficace contre *Leishmania infantum*.

Dans le sud de l'Europe<sup>2,3</sup>, 2,5 millions de chiens sont infectés par le parasite responsable de cette maladie chronique souvent mortelle. Les chiens constituent un réservoir pour le parasite, qui se transmet d'un chien à l'autre par des piqûres de phlébotomes infectés (*Phlebotomus spp.*).

Canileish®, seul vaccin contre la leishmaniose canine en Europe, permet de réduire le risque d'infection de manière sûre, efficace et durable. Ce vaccin, attendu de longue date, est à présent disponible dans toutes les cliniques vétérinaires.

1. Le vaccin Canileish® a été mis au point par BVT (Bio Veto Test), une filiale en propriété exclusive de Virbac, en coopération avec l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement), et les équipes de R&D du groupe Virbac. Ce projet repose sur une invention brevetée de l'IRD relative à la culture des leishmanies, dont l'IRD a concédé une licence exclusive à BVT pour le marché vétérinaire.
2. Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, et al. Canine leishmaniasis: new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitology*, 2008; 24: 324-330.
3. Moreno L, Alvar J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends Parasitol*, 2002; 18(9):399-405.



**CANILEISH**® lyophilisat et solvant pour suspension injectable pour chiens. Composition : Lyophilisat : Protéines sécrétées séchées de *Leishmania infantum*, au moins 100 µg. Solvant : Extrait purifié des Quilajis saponaria (QA-21): 60 µg. Solvant : Chlorure de sodium 9 mg/ml (0,9%) 1 ml. Indications: Immunisation active des chiens *Leishmania infantum* à partir de l'âge de 6 mois pour réduire le risque de développer une infection active et une maladie clinique après contact avec *Leishmania infantum*. Début de l'immunité : 4 semaines après la primo-injection. Durée de l'immunité : 1 an après la dernière vaccination ou le dernier rappel. Contre-indications : Ne pas utiliser en cas d'hypersensibilité connue au principe actif, à l'adjuvant ou à l'un des excipients du vaccin. Précautions particulières d'emploi : Ne vacciner que les animaux en bonne santé. L'effet protecteur du vaccin n'a pas été étudié chez des chiens déjà infectés par *Leishmania infantum* et ne peut, par conséquent, pas être recommandé. Chez les chiens développant une leishmaniose (infection active ou maladie) malgré la vaccination, la poursuite des injections de vaccin n'a pas montré de bénéfice. L'injection du vaccin chez des chiens déjà infectés par *Leishmania infantum* n'a montré aucun effet thérapeutique spécifique autre que ceux mentionnés. L'utilisation d'un test de diagnostic serologique rapide afin de détecter les chiens infectés avant la vaccination est recommandée. En cas de résultat sérologique positif, administrer un traitement symptomatique approprié. Il est recommandé de vermifuger les animaux infestés avant la vaccination. La vaccination ne doit pas empêcher de prendre d'autres mesures pour réduire l'exposition aux phlébotomes. Précautions particulières à prendre par la personne qui administre le médicament vétérinaire aux animaux. En cas d'effet-injection accidentelle, demander immédiatement conseil à un médecin et montrer la notice ou l'iquilisque. Effets indésirables (fréquence et gravité): Après injection, des réactions locales modérées et transitoires peuvent survenir telles que : œdème, nodules, douleur à la palpation ou érythème. Ces réactions régressent spontanément en 2 à 15 jours. D'autres symptômes transitoires, habituellement observés après une vaccination, peuvent survenir, tels que hyperthermie, apathie et troubles digestifs et durants 1 à 5 jours. Des réactions de type allergique sont rares et si elles apparaissent un traitement symptomatique approprié doit être administré. Utilisation en cas de grossesse, de lactation. La sécurité du médicament vétérinaire n'a pas été établie en cas de gestation et de lactation. L'utilisation n'est donc pas recommandée pendant la gestation et la lactation. Pharmacologie et voie d'administration : Voir sous-culture. Après la reconstitution du lyophilisat avec le solvant, agiter énergiquement pendant la gestation et la lactation. Posologie et voie d'administration : Voir sous-culture. Après la reconstitution du lyophilisat avec le solvant, agiter énergiquement pendant la gestation et la lactation. Précautions particulières d'emploi : Primo-injection : - Première injection: à partir de l'âge de 6 mois. - Seconde injection, 3 semaines plus tard. - Troisième injection, 3 semaines après la 2ème injection. Rappel annuel : - Injecter une dose de vaccin 1 an après la troisième injection et ensuite annuellement. Conservation : 2 ans. Utiliser immédiatement après reconstitution. A conserver et transporter réfrigéré (2 °C et 6 °C). Préparer de la lumière. Catégorie : Usage vétérinaire. A ne délivrer que sur ordonnance. Présentations : 20ml EIU/21/12/001-009 du 14/03/2011. Boîte de 3 doses + 3 solvants GTIN 0359713220976. Boîte de 15 vaccins + 15 solvants GTIN 0359713220983. Virbac France - 10<sup>ème</sup> Rue L.L.D. - BP 447 - 06515 CARROS CEDEX. Service Client : 0 811 706 706 - Virbac Assistance : 0 811 904 606 - Fax : 04 92 08 71 75 - Web : www.virbac.fr

## Canileish® une efficacité éprouvée dans des conditions de terrain "extrêmes"

Dans le cadre d'une étude sur le terrain, 23 % des chiens témoins non vaccinés ont développé une maladie symptomatique au cours des deux années passées en extérieur dans une région hautement endémique, sans utilisation de répulsifs contre les phlébotomes, tandis que 93 % des chiens vaccinés avec Canileish® n'ont présenté aucun symptôme ! L'évaluation de l'efficacité du vaccin montre que Canileish® permet de diviser par quatre le risque de développer la maladie clinique.

Cette réduction significative des risques s'explique par la stimulation spécifique de l'immunité cellulaire contre *L. infantum*. Le vaccin ne contient pas de parasite entier susceptible d'être virulent chez l'hôte, que celui-ci soit immunodéprimé ou non.

La leishmaniose se propage à présent du sud de l'Europe vers le nord<sup>4</sup>. Il semblerait que ce phénomène soit dû au réchauffement climatique et au nombre croissant de propriétaires qui voyagent avec leur chien.

De sérieuses inquiétudes concernant l'introduction de maladies vectorielles, comme la leishmaniose canine par exemple, dans les régions non endémiques en Europe, ont été soulevées<sup>5</sup>. De plus amples informations concernant cette solution véritablement novatrice sont disponibles auprès de votre délégué Virbac, ou en appelant Virbac Assistance au : 0811 90 46 06 (6 centimes d'euros la minute).

4. Maroli M, Rossi L, Baldelli R, et al. The northward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors. *Trop. Med. Int. Health*, 2008; 13: 256-264.
5. Shaw SE, Lergu AJ, Williams S, et al. Review of exotic infectious diseases in small animals entering the United Kingdom from abroad diagnosed by PCR. *Vet. Rec.*, 2003; 152: 176-177.

\* source dossier d'AMM

## Un vaccin dont l'efficacité et l'innocuité sont prouvées

Nouveau

Canileish®



Une solution efficace contre une maladie mortelle

Canileish® - le premier vaccin contre la leishmaniose canine en Europe.

La santé animale est notre passion

Virbac  
SANTÉ ANIMALE

Méthode de culture des leishmanies sous licence de l'IRD.

## Annexe 4 : Questionnaire à destination des vétérinaires



### ETUDE PORTANT SUR LE VACCIN CANILEISH® CONTRE LA LEISHMANIOSE

Questionnaire destiné aux vétérinaires

*Ce questionnaire est réalisé dans le cadre d'une thèse de doctorat vétérinaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, avec l'appui du laboratoire Virbac. Les informations demandées sont relatives à l'activité du vétérinaire, et non de la clinique.*

Date : .....

Nom du cabinet/de la clinique : .....

Département d'exercice : .....

Nombre de vétérinaires (associés + salariés) de la structure : .....

1. Votre type de clientèle :  canine  rurale  mixte  autre

Si « autre », spécifiez : .....

2. Combien de chiens avez-vous en consultation en moyenne par semaine ? .....

3. Combien de cas de leishmaniose avez-vous eu en 2011 ?

Confirmés : .....

Suspectés : .....

4. Pensez-vous que l'incidence des cas de leishmaniose dans votre département en 2011, a :

Augmenté

Stagné

Diminué

5. Quel(s) moyen(s) de prévention contre la leishmaniose recommandez-vous à vos clients ?

Vaccination

Anti-parasitaires externes

Conseils sanitaires

### LE VACCIN CONTRE LA LEISHMANIOSE

6. Avez-vous entendu parler du vaccin CANILEISH® ?

Oui

Non

*Si non, merci de passer à la question 18.*

Si oui :

**7. Comment en avez-vous été informé ?**

- Démarche personnelle (lectures scientifiques, participation à des congrès...)
- Discussion (avec client, confrère...)
- Demande des clients
- Démarchage (représentants, publicités...)
- Médias (internet, presse quotidienne régionale)

**8. Pensez-vous être assez informé sur le produit ?**

- Oui
- Non : **quelles sont vos attentes ?**

.....

.....

.....

**9. Dans quel état d'esprit êtes-vous par rapport à ce vaccin ?**

- Curieux
- Enthousiaste
- Méfiant
- Réfractaire
- NSP

**a. Si « curieux » et/ou « enthousiaste », pour quelle(s) raison(s) ?**

- Importance de la maladie
- Efficacité de ce vaccin
- Nouveauté
- Attentes des propriétaires
- Autre : .....

**b. Si « méfiant » et/ou « réfractaire », pour quelle(s) raison(s) ?**

- Prix trop élevé
- Efficacité encore à prouver
- Effets secondaires (craints, vus)
- Réactions négatives des clients
- Manque d'informations
- Autre : .....

**VOTRE COMMUNICATION AVEC LES PROPRIETAIRES**

**10. Avez-vous déjà reçu des demandes d'informations de la part de clients ?**

- Aucune
- Quelques-unes
- Beaucoup

**11. Avez-vous mis en place dans votre clinique des moyens d'information sur CANILEISH® ?**

- Oui : lesquels ? .....
- Non

**12. Avez-vous spontanément parlé de/proposé le vaccin CANILEISH® à des clients ?**

- Oui
- Non

*Si vous avez répondu « oui » à la question 12 :*

**13. Quelle a été la réaction des clients ? (plusieurs réponses possibles)**

- Curieux
- Méfiants
- Enthousiastes
- Réfractaires

**a. Si « curieux » et/ou « enthousiastes », quelle(s) étai(en)t leur(s) principale(s) motivation(s) ?**

- Un de leurs chiens est atteint de cette maladie, ils connaissent donc sa gravité
- Ils ont été sensibilisés à cette maladie même si aucun de leurs chiens n'en est atteint
- Des études ont montré l'efficacité de ce vaccin
- Attrait de la nouveauté
- Autre : .....

**b. Si « méfiants » et/ou « réfractaires », quels ont été les principaux points de débat/refus ?**

- Protocole long/contraignant/calendrier difficile à respecter
- Efficacité sur le terrain à prouver
- Prix élevé
- Effets secondaires (crainte, expérience)
- Autre .....

#### VOTRE UTILISATION DU VACCIN CONTRE LA LEISHMANIOSE

**14. Avez-vous déjà vacciné avec CANILEISH®?**

- Oui
- Non

*Si oui :*

**a. Vérifiez-vous systématiquement, avant de vacciner :**

- que le chien est âgé de plus de 6 mois ?
- qu'il est séronégatif pour la leishmaniose (test rapide) ?

**b. Combien de protocoles de primovaccination réalisez-vous par mois en moyenne ?**

- 1 ou moins     entre 2 et 4     entre 5 et 8     plus de 8

**c. Sur les primo vaccinations que vous avez amorcées, quelle proportion sera menée jusqu'au terme (3 injections) ?**

- moins de 50%                       entre 50 et 80%                       plus de 80%

**e. Quelles ont été les difficultés rencontrées ?**

- Protocole/disponibilité des propriétaires  
 Prix  
 Effets secondaires : **Lesquels ?**.....

**15. Pour la primo-vaccination (3 consultations + 3 injections + 1 test rapide de dépistage de la leishmaniose), proposez-vous à vos clients un forfait/une facilité de paiement, ou paient-ils chaque acte indépendamment des autres ?**

.....  
.....

**15 bis. A quel prix avez vous fixé la primovaccination (3 consultations + 3 injections + 1 test rapide de dépistage de la leishmaniose) ?**

- < 100 euros  
 100 - 150 euros  
 150 - 200 euros  
 > 200 euros  
 Montant exact : .....

**16. Suite à votre première expérience, allez-vous continuer à proposer la vaccination contre la leishmaniose ?**

- Oui  
 Non

**17. Si vous n'avez pas encore le vaccin, allez-vous le faire ?**

- Oui  
 Non  
 Sans objet

**18. Dans le cadre de cette même thèse, acceptez-vous de diffuser à vos clients des questionnaires d'enquête relatifs à ce vaccin ?**

- Oui  
 Non

**19. Souhaitez-vous recevoir les résultats de l'enquête ?**

- Oui : avez-vous une adresse mail ? .....  
 Non

**NOUS VOUS REMERCIONS POUR VOTRE COLLABORATION.**



**8. Traitez-vous régulièrement votre (vos) chien(s) contre les phlébotomes ?**

- Oui
- Non
- Ne sais pas

**a. Si oui :**

**Par quel moyen ?**

- Collier
- Pipette
- Autre : .....

**A quelle fréquence ?.....**

**9. L'un de vos chiens a-t-il déjà attrapé la leishmaniose ?**

- Oui : **si plusieurs chiens, combien ?.....**
- Non
- Ne sais pas

**LE VACCIN CONTRE LA LEISHMANIOSE**

**10. Avez-vous déjà entendu parler de la leishmaniose ?**

- Oui
- Non

**a. Si oui, comment avez-vous pris connaissance de l'existence de cette maladie ?**

- Un de vos chiens l'a attrapée
- Votre vétérinaire vous en a parlé
- Au cours d'une discussion avec des personnes autres que votre vétérinaire
- Lectures ou démarche personnelles au sujet de la maladie
- En entendant parler du vaccin (publicité écrite ou orale, discussions...)

**11. Avez-vous déjà entendu parler du vaccin contre la leishmaniose ?**

- Oui
- Non

Si non :

**12. Seriez-vous intéressé par ce vaccin ?**

- Oui
- Non
- Ne sais pas

*Le questionnaire s'arrête ici.*

Si oui :



**13. Comment avez-vous été informé de l'existence de ce vaccin?**

- Chez votre vétérinaire
- Au cours d'une discussion avec des personnes autres que votre vétérinaire
- Médias (internet, presse quotidienne régionale)

**14. Quels moyens d'information au sujet de ce vaccin y a-t-il chez votre vétérinaire ?**

- Aucun
- Vétérinaires / personnel auxiliaire
- Affiches / brochures
- Autres : .....

**15. Pensez-vous être assez informé ?**

- Oui
- Non

**16. Dans quel état d'esprit êtes-vous par rapport à ce vaccin ?**

- Curieux
- Enthousiaste
- Méfiant
- Réfractaire
- Aucune opinion

**a. Si « curieux » et/ou « enthousiaste », pour quelle(s) raison(s) ?**

- Un de vos chiens a déjà été atteint par cette maladie, vous connaissez donc sa gravité
- Vous avez été sensibilisé à cette maladie même si aucun de vos chiens n'en a été atteint
- Des études ont montré l'efficacité de ce vaccin
- Ce vaccin est nouveau
- Autre : .....

**b. Si « méfiant » et/ou « réfractaire », pour quelle(s) raison(s) ?**

- Prix
- Efficacité
- Effets secondaires
- Protocole
- Manque d'informations
- Autre : .....

**17. Avez-vous fait vacciner votre (vos) chien(s) contre la leishmaniose ?**

- Oui
- Non

*Si oui :*

**18. Combien de vos chiens ont été vaccinés contre cette maladie ?.....**

**19. Comment votre (vos) chien(s) a-t-il (ont-ils) réagi à la vaccination ?**

- Aucune réaction particulière
- Réaction passagère (abattement, fatigue, fièvre)
- Réaction au site d'injection
- Autre(s) : .....

**20. Allez-vous continuer à vacciner votre (vos) chien(s) contre la leishmaniose chaque année ?**

- Oui
- Non
- Peut-être

**21. Allez-vous tout de même continuer à protéger vos chiens par les moyens déjà mis en place (pipette, collier, protections physiques à votre domicile ...) ?**

- Oui
- Non

*Si non :*

**22. Envisagez-vous de faire vacciner votre (vos) chien(s) prochainement ?**

- Oui : **quand ?**.....
- Non : **pourquoi ?**.....
- Peut-être

**23. Le prix de la primo vaccination complète (3 visites + test de dépistage) vous paraît :**

- Trop faible
- Raisonnable
- Trop élevé

**24. Avez-vous des remarques?**

.....

.....

.....

**NOUS VOUS REMERCIONS POUR VOTRE COLLABORATION.**

## Annexe 6 : Lettre d'accompagnement



Chère(s) consoeur(s), cher(s) confrère(s),

Je m'appelle Marie GRANIER et je suis étudiante en 4<sup>ème</sup> année à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Je vous sollicite aujourd'hui dans le cadre de ma thèse, intitulée « Etude de la perception du vaccin contre la leishmaniose par les vétérinaires et les propriétaires de chiens en zone d'enzootie sur le territoire de France métropolitaine ».

Selon une étude Oniris menée d'octobre à décembre 2010, le département dans lequel vous exercez est situé dans la zone endémique de leishmaniose. Depuis le mois de septembre 2011, un vaccin contre la leishmaniose, Canileish®, est disponible en France.

Ma thèse s'organise en deux parties : la première est une synthèse bibliographique sur les différents vaccins canins disponibles dans le monde contre la leishmaniose, la seconde est une enquête de terrain s'intéressant à la perception par les vétérinaires et les propriétaires de chiens en zone d'enzootie du vaccin récemment commercialisé.

Pour cette dernière, j'ai ainsi créé 2 types de questionnaires : le premier vous est destiné (un exemplaire par vétérinaire). Le second, dont je joins 20 exemplaires, est destiné à vos clients propriétaires de chiens. Pourriez vous proposer le questionnaire à tous les propriétaires de chien quelque soit le motif de la consultation ? Pour respecter l'anonymat des réponses, pourriez-vous prévoir une boîte destinée aux questionnaires remplis dans votre salle d'attente ?

Les objectifs de cette enquête sont multiples. D'une part, recueillir des données concernant l'incidence de la leishmaniose en 2011 et les différents moyens de prévention mis en œuvre. D'autre part, donner la parole aux propriétaires : connaissent-ils le danger que représente cette maladie ? Disposent-ils des informations nécessaires pour comprendre l'intérêt de ce vaccin ? Sont-ils disposés à faire vacciner leur animal ? Continueront-ils à le traiter contre les phlébotomes par la suite ? Enfin, c'est le moyen de VOUS donner la parole : quel regard portez-vous sur le vaccin contre la leishmaniose Canileish® ? Le conseillez-vous ? Quels points forts ou points faibles avez-vous à souligner ? Quels retours avez-vous en pratique ?

Les résultats de cette étude permettront aux professionnels, à différents niveaux, d'améliorer ou corriger certains points et de mieux répondre aux besoins et aux attentes des propriétaires de chiens, contribuant ainsi à freiner la progression de la maladie.

Cette thèse est supervisée par le professeur Séverine BOULLIER, immunologiste à l'ENVV, et soutenue par le laboratoire VIRBAC.

Les questionnaires sont à retourner avant le 30 septembre 2012 (vous trouverez une enveloppe affranchie dans ce courrier).

Si vous le souhaitez, en remerciement de votre contribution, les résultats vous seront personnellement communiqués.

Nous restons à votre disposition pour toute question : [mariegranier@live.fr](mailto:mariegranier@live.fr)      [s.boullier@envt.fr](mailto:s.boullier@envt.fr)

Confraternellement,

**Annexe 7 : Réponses à l'enquête : données générales par catégorie**

	nombre de réponses	nombre de questionnaires vétérinaires renvoyés	nombre de questionnaires propriétaires renvoyés
300 structures plus grosses consommatrices de Canileish®	47	54	414
300 plus grosses structures hors grosses consommatrices	33	32	197
Structures non identifiées	3	2	3
Total	83	88	614

**Annexe 8 : Réponses à l'enquête : données générales par département et par région**  
**8A : par département**

Région	Département	nombre de structures vétérinaires contactées	nombre de questionnaires clients envoyés	nombre de structures de département identifié ayant répondu	nombre de questionnaires vétérinaires renvoyés	nombre de questionnaires clients renvoyés	% structures de département identifié ayant répondu	% de questionnaires clients renvoyés	% de questionnaires vétérinaires renvoyés
Aquitaine	Lot et Garonne (47)	14	280	2	2	18	14,3%	6,4%	14,3%
Midi-Pyrénées	Ariège (09)	7	140	2	2	19	28,6%	13,6%	28,6%
	Aveyron (12)	13	260				0,0%	0,0%	0,0%
	Haute Garonne (31)	53	1060	6	6	9	11,3%	0,8%	11,3%
	Lot (46)	3	60				0,0%	0,0%	0,0%
	Tarn (81)	11	220	1	1	7	9,1%	3,2%	9,1%
	Tarn et Garonne (82)	9	180				0,0%	0,0%	0,0%
Languedoc-Roussillon	Aude (11)	24	480	5	4	13	20,8%	2,7%	16,7%
	Gard (30)	42	840	7	8	65	16,7%	7,7%	19,0%
	Hérault (34)	41	820	4	5	53	9,8%	6,5%	12,2%
	Lozère (48)	1	20	1	1		100,0%	0,0%	100,0%
	Pyrénées Orientales (66)	21	420	2	2	22	9,5%	5,2%	9,5%
Rhône-Alpes	Ardèche (07)	18	360	3	3	33	16,7%	9,2%	16,7%
	Drôme (26)	20	400	2	2	8	10,0%	2,0%	10,0%
PACA	Alpes de Haute Provence (04)	16	320	4	4	20	25,0%	6,3%	25,0%
	Hauts Alpes (05)	9	180	2	2	20	22,2%	11,1%	22,2%
	Alpes Maritimes (06)	88	1760	11	13	69	12,5%	3,9%	14,8%
	Bouches du Rhône (13)	101	2020	14	14	119	13,9%	5,9%	13,9%
	Var (83)	67	1340	9	9	78	13,4%	5,8%	13,4%
	Vaucluse (84)	25	500	5	5	34	20,0%	6,8%	20,0%
Corse	Corse (20)	17	340	2	5	27	11,8%	7,9%	29,4%
	<b>Total</b>	600	12000	82	88	614	13,7%	5,1%	14,7%

**8B : par région**

	Réponses par région		Questionnaires vétérinaires renvoyés par région		Questionnaires clients renvoyés par région	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Aquitaine	2	14,3%	2	14,3%	18	6,4%
Midi-Pyrénées	9	9,4%	9	9,4%	35	1,8%
Languedoc-Roussillon	19	14,7%	20	15,5%	153	5,9%
Rhône-Alpes	5	13,2%	5	13,2%	41	5,4%
PACA	45	14,7%	47	15,4%	340	5,6%
Corse	2	11,8%	5	29,4%	27	7,9%

**Annexe 9 : Répartition des 299 structures « les plus grosses consommatrices de Canileish® » contactées**

Région	Département	nombre de structures grosses consommatrices contactées
Aquitaine	Lot et Garonne (47)	0
Midi-Pyrénées	Ariège (09)	0
	Aveyron (12)	3
	Haute Garonne (31)	1
	Lot (46)	0
	Tarn (81)	1
	Tarn et Garonne (82)	0
Languedoc-Roussillon	Aude (11)	4
	Gard (30)	28
	Hérault (34)	22
	Lozère (48)	1
	Pyrénées Orientales (66)	11
Rhône-Alpes	Ardèche (07)	11
	Drôme (26)	5
PACA	Alpes de Haute Provence (04)	10
	Hautes Alpes (05)	0
	Alpes Maritimes (06)	59
	Bouches du Rhône (13)	65
	Var (83)	46
	Vaucluse (84)	17
	Corse (20)	15
	<b>Total</b>	<b>299</b>

## **BIBLIOGRAPHIE**



AFSSET (2010). Spirales anti-moustiques : risques sanitaires liés à l'exposition aux émissions de fumées, avril 2010, 137 pages.

ANTOINE J.C (1994). Leishmanies : cycle et adaptations. *Médecine et armées, numéro spécial leishmaniose*, **22** : 1, 23-27.

ASHFORD R.W (1996). Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clinics in Dermatology*, **14**, 523-532.

BANETH G (2001). Chemotherapy of canine leishmaniasis. In : *Summaries of presentations at the international canine leishmaniasis forum*, 20-24 may 2001, Crete, Greece, p37-46.

BANETH G, KOUTINAS A. F, SOLANO-GALLEGO L, BOURDEAU P, FERRER L (2008). Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis : part one. *Trends in parasitology*, **24** : 7, 324-330.

BATES P. A (2007). Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies, *International Journal for Parasitology*, **37**, 1097-1106.

BLACKWELL J.M, GOSWAMI T, EVANS C.A.W, SIBTHORPE D, PAPO N, WHITE J.K, SEARLE S, MILLER E.N, PEACOCK C.S, HIBA M, MUNTASER I (2001). Slc11a1 (formerly NRAM1) and disease resistance. *Cellular microbiology*, **3** : 12, 773-784.

BOGDAN C, ROLLINGHOFF M (1998). The immune response to *Leishmania* : mechanisms of parasite control and evasion. *International Journal of Parasitology*, **28**, 121-134.

BORJA-CABRERA G. P, SANTOS F. N, SANTOS F. B, DE A TRIVELLATO F. A, KIYOSHI A KAWASAKI J, CERQUEIRA COSTA A, CASTRO T, NOGUEIRA F. S, MOREIRA M. A. B, LUVIZOTTO M. C. R, PALATNIK M, PALATNIK-DE-SOUSA C. B (2010). Immunotherapy with the saponin enriched-Leishmune® vaccine versus immunochemotherapy in dogs with natural canine visceral leishmaniasis, *Vaccine*, **28** : 3, 597-603.

BOURDEAU P (1988). Eléments de la relation hôte-parasite au cours de l'infection leishmanienne et conséquences. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, supplément spécial leishmaniose, **23**, 57-72.

BOURDOISEAU G, HUGNET C, PAPIEROCK G-M, LEMESRE J-L (2004), La leishmaniose canine à *Leishmania infantum* : essais d'immunothérapie, *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, **157** : 1, 63-67.

BOURDOISEAU G (2011), Leishmaniose feline : actualités. *Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie*, **46**, 23-26.

CHAMAILLE L, TRAN A, MEUNIER A, BOURDOISEAU G, READY P, DEDET J-P (2010). Environmental risk mapping of canine leishmaniasis in France. *Parasites and Vectors* [en ligne], **3**:31. <http://www.parasitesandvectors.com/content/3/1/31> (consulté le 24/02/2013).

CHAMARD V (2011). La leishmaniose gagne du terrain en France. *La Semaine Vétérinaire*, n° 1455, juin 2011, 26-27.

CHANG K-P, REED S G, McGUIRE B S, SOONG L (2003). *Leishmania* model for microbial virulence : the relevance of parasite multiplication and pathoantigenicity. *Acta Tropica*, **85**, 375-390.

CHENE J, BOURDOISEAU G, CHABANNE L et coll (2010). Comparison of a rapid immunochromatographic test with immunofluorescence assay for the detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in dog. In : *2<sup>nd</sup> Congresso Internazionale SCIVAC – Leishmaniosi canina*, April 2010, Pisa-Italy.

CIARAMELLA P, PELAGALLI A, CORTESE L, PERO M.E, CORONA M, LOMBARDI P, AVALLONE L, PERSECHINO A (2005). Altered platelet aggregation and coagulation disorders related to clinical findings in 30 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*, *The Veterinary Journal*, **169**, 465-467.

COSTA H. N. C (2011). How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **44** : 2, 232-242.

COURTENAY O, QUINNELL R. J, GARCEZ L. M, SHAW J. J, DYE C (2002). Infectiousness in a Cohort of Brazilian Dogs: Why Culling Fails to Control Visceral Leishmaniasis in Areas of High Transmission. *The Journal of Infectious Diseases*, **2002** : 186, 1314-1320.

DEDET J.P (1994). Leishmanioses dans le monde, *Médecine et Armées*, **22** : 1, 7-9.

DE FREITAS E, MELO M.N, DA COSTA-VAL A.P, MARQUES MICHALICK M.S (2006). Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs : potential for infection and importance of clinical factors. *Veterinary Parasitology*, **137**, 159-167.

DESJEUX P, ALVAR J (2003). *Leishmania*/HIV co-infections : epidemiology in Europe. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **97**, supplément n°1, 3-15.

DEVAULT A, BANULS A-L (2008). The promastigote surface antigen gene family of the *Leishmania* parasite : differential evolution by positive selection and recombination. *BMC Evolutionary Biology*, **8** : 292, 15 pages.

DUCHE J.C, BARRE J (2005). Le test de transformation lymphocytaire (TTL). *Documents pour le médecin du travail* [en ligne], n°103. [www.inrs.fr](http://www.inrs.fr) (consulté le 29/06/2013).

DUPREY Z.H, STEURER F.J, ROONEY J.A, KIRCHHOFF L.V, JACKSON J.E, ROWTON E.D, SCHANTZ P.M (2006). Canine visceral leishmaniasis, United States and Canada, 2000-2003. *Emerging infectious diseases*, **12-3**, 440-446.

EUZEBY J (1988). Thérapeutique actuelle et nouveaux concepts. *Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie*, spécial leishmaniose, **23**, 103-110.

EVANS K.J, KEDZIERSKI L (2012). Development of vaccines against visceral leishmaniasis. *Journal of tropical medicine*, **2012**, 1-14.

FREYBURGER L, CHABANNE L, BOURDOISEAU G (2012). Vaccination anti-parasitaire contre la babésiose et la leishmaniose chez le chien, *Le Point Vétérinaire*, n°325, 28-33.

HOLZMULLER P, CAVALEYRA M, MOREAUX J, KOVACIC R, VINCENDEAU P, PAPIEROK G, LEMESRE J.L (2005). Lymphocytes of dogs immunised with purified excreted-secreted antigens of *Leishmania infantum* co-incubated with *Leishmania* infected macrophages produce IFN gamma resultings in nitric oxide-mediated amastigote apoptosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **106**, 247-257.

GAVGANI A.S.M, HODJATI M.H, MOHITE H, DAVIES C.R (2002). Effect of insecticide-impregnated collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children : a matched-cluster randomized trial. *The Lancet*, **360**, 374-379.

GIBSON-CORLEY K.N, HOSTETTER J.M, HOSTETTER S.J, MULLIN K, R AMER-TAIT A.E, BOGGIATTO P.M, PETERSEN C.A (2008). Disseminated *Leishmania infantum* infection in two siblings foxhounds due to possible vertical transmission. *Canadian veterinary journal*, **49**, 1005-1008.

GRAMICCIA M, GRADONI L (2005). The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *Int J Parasitol.*, **35**, 1169-80.

HOWARD A, CALLAN B, SWEENEY M, GIGER U (1992). Transfusion practices and costs in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **201**, 1697-1701.

KAMHAWI S (2006). Phlebotomine sand flies and Leishmania parasites : friends or foes ? *Trends in Parasitology*, **22** : 9, 439-445.

LEMESRE J.L, BLANC M.P, GREBAULT P, ZILBERFARD V, CARRIERE V (1994a). Culture continue de formes amastigotes de Leishmanies en condition axénique. Réalisation du cycle évolutif *in vitro*. *Médecine et Armées : numéro spécial leishmaniose*, **22** : 1, 99.

LEMESRE J.L (1994b). Process for the *in vitro* culture of different stages of tissue parasites. Brevet international, PCT/FR N° 94/00577.

LEMESRE J.L (2012). Pistes de développement d'un vaccin pour l'Homme. In : *Proceedings – 5ème journée d'actualités du RESFIZ*, 27 avril 2012, Nice, p23.

MANNA L, PACIELLO O, DELLA MORTE R, GRAVINO A.E (2012). Detection of Leishmania parasites in the testis of a dog affected by orchitis : case report. *Parasites and Vectors* [en ligne], **5**:216. <http://www.parasitesandvectors.com/content/5/1/216> (consulté le 12/02/2013).

MAROLI M, PENNISI M.G, DI MUCCIO T, KHOURY C, GRADONI L, GRAMICCIA M (2007). Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. *Veterinary Parasitology*, **145**, 357-360.

MAROLI M, ROSSI L, BALDELLI R, CAPELLI G, FERROGLIO E, GENCHI C, GRAMICCIA M, MORTARINO M, PIETROBELLI M, GRADONI L (2008). The northward spread of leishmaniasis in Italy : evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors. *Tropical Medicine and International Health*, **13** : 2, 256-264.

MARTY P (2010). Leishmaniose viscérale : épidémiologie, diagnostic et traitement, *La lettre de l'infectiologue*, **25** : 5, 186-190.

MARTY P (2012). Actualités sur les leishmanioses humaines. In : *Proceedings – 5ème journée d'actualités du RESFIZ*, 27 avril 2012, Nice, p7.

MENN B, NAUCKE T.J, LORENTZ S (2010). Imported and travelling dogs as carriers of canine vector-borne pathogens in Germany. *Parasites and Vectors* [en ligne], **3**:34. <http://www.parasitesandvectors.com/content/3/1/34> consulté le 13/02/2013).

MILON G (2009). Les leishmanies mènent une double vie, *Pasteur le mag'*, juin 2009, 8-14.

MIRO G, CARDOSO L, PENNISI M. G, OLIVA G, BANETH G (2008). Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis : part two. *Trends in Parasitology*, **24** : 8, 371-377.

MIRO G, OLIVA G, CRUZ I, CANAVATE C, MORTARINO M, VISCHER C, BIANCARDI P (2009). Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Veterinary Dermatology*, **20**, 397-404.

NADAU Q (2005). *Etude préliminaire de l'utilisation de la protéine LACK dans le test d'intradermoréaction de la leishmaniose canine*. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier de Toulouse, 122 p.

NAUCKE T.J, LORENTZ S (2012). First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany, *Parasites and Vectors* [en ligne], **5**:67. <http://www.parasitesandvectors.com/content/5/1/67> (consulté le 12/02/2013).

OMS (2002). Urbanisation : facteur de risque croissant pour la leishmaniose, *Relevé épidémiologique hebdomadaire*, **77** : 44, 365-370.

OMS, série de rapports techniques n°949 (2011). La lutte contre les leishmanioses. Rapport de la réunion du comité OMS d'experts de la lutte contre les leishmanioses, 22-26 mars 2010, Genève (Suisse). Genève : éditions de l'OMS, 228 pages.

OWENS S.D, OAKLEY D.A, MARRYOTT K, HATCHETT W, WALTON R, NOLAN T.J, NEWTON A, STEURER F, SCHANTZ P, GIGER U (2001). Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English Foxhounds to anemic dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **219** : 8, 1076-1083.

PALATNIK-DE-SOUSA C (2012). Vaccines for canine leishmaniasis. *Frontiers in immunology*, **3** : 69, 1-15.

PIARROUX R, JEDDI F, FAUCHER B, POMARES C, MARY C, FARAUT F, MARTY P, AOUN K (2012). Epidémiologie de la leishmaniose viscérale humaine dans le Bassin méditerranéen. In : *Proceedings – 5ème journée d'actualités du RESFIZ*, 27 avril 2012, Nice, p 11.

QUINNELL R.J, KENNEDY L.J, BARNES A, COURTENAY O, DYE C, GARCEZ L.M, SHAW M-A, CARTER S.D, THOMSON W, OLLIER W.E.R (2003). Susceptibility to visceral leishmaniasis in the domestic dog is associated with MHC class II polymorphism, *Immunogenetics*, **55**, 23-28.

RAJPUT Z.I, HU S-H, XIAO C-W, ARIJO A.G (2007). Adjuvant effects of saponins on animal immune responses, *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, **8** : 3, 153-161.

RAMALHO-ORTIGAO M, SARAIVA E. M, TRAUB-CSEKO Y. M (2010). Sand-fly-*Leishmania* interactions : long relationships are not necessarily easy, *The Open Parasitology Journal*, **4**, 195-204.

RITTING M.G, BOGDAN C (2000). Leishmania-host-cell interaction : complexities and alternative views, *Parasitology Today*, **16** : 7, 292-297.

ROSA R, MARQUES C, ROOS RODRIGUEZ O, SANTOS-GOMES G.M (2007). Immunization with *Leishmania infantum* released proteins confers partial protection against parasite infection with a predominant Th1 specific immune response, *Vaccine*, **25**, 4525-4532.

ROZE M (2005). Canine leishmaniasis. A spreading disease. Diagnosis and treatment. *EJCAP*, **15** : 1, 39-52.

SANCHEZ-ROBERT E, ALTET L, SANCHEZ A, FRANCINO O (2005). Polymorphism of Slc11a1 (Nramp1) Gene and Canine Leishmaniasis in a Case-Control Study, *Journal of Heredity*, **96** : 7, 755-758.

SANTAREM N, SILVESTRE R, TAVARES J, SILVA M, CABRAL S, MACIEL J, CORDEIRO-DA-SILVA A (2007). Immune Response Regulation by *Leishmania* Secreted and Nonsecreted Antigens. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, **2007**, 10 pages.

SANTOS W.R, DE LIMA V.M.F, PARAGUAI DE SOUZA E, BERNARDO R.R, PALATNIK M, PALATNIK DE SOUSA C.B (2002). Saponins, IL12 and BCG adjuvant in the FML-vaccine formulation against murine visceral leishmaniasis, *Vaccine*, **21**, 30-43.

SILVA F.L, OLIVEIRA R.G, SILVA T.M.A, XAVIER M.N, NASCIMENTO E.F, SANTOS R.L (2009). Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*, **160**, 55-59.

SHAW S.E, LERGA A. I, WILLIAMS S, BEUGNET F, BIRTLES R.J, DAY M.J, KENNY M.J (2003). Review of exotic infectious diseases in small animals entering the United Kingdom from abroad diagnosed by PCR. *Veterinary Record*, **152**, 176-177.

SLAPPENDEL R. J, TESKE E (1999). A review of canine leishmaniasis presenting outside endemic areas. In : *Canine leishmaniasis : an update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum*. 28-31 January 1999, Barcelona, Spain. Ed. R. Killick-Kendrick, pp 54-59.

SOLANO-GALLEGO L, LLULL J, RAMOS G, RIERA C, ARBOIX M, ALBEROLA J, FERRER L (2000). The Ibiza hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection, *Veterinary Parasitology*, **90**, 37-45.

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

SOLANO-GALLEGO L, KOUTINAS A, MIRO G, CARDOSO L, PENNISI M.G, FERRER L, BOURDEAU P, OLIVA G, BANETH G (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites and Vectors* [en ligne], **4**:86. <http://www.parasitesandvectors.com/content/4/1/86> (consulté le 15/02/2013).

SPICKLER A.R, ROTH J.A (2003). Adjuvants in veterinary vaccines : modes of action and adverse effects, *Journal of veterinary internal medicine*, **17**, 273-281.

TULASNE L (2009). *Actualités dans la lutte contre la leishmaniose canine*. Diplôme de doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil, 128 pages.

TUON F. F, NETO V. A, AMATO V. S (2008). Leishmaniasis : origin, evolution and future since the Precambrian. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **54**, 158-166.

VIAUD S (2012). Leishmaniose canine : présentation d'un cas atypique. *L'essentiel*, **275**, décembre 2012, 18-23.

VIRBAC (2011). Virbac lance Canileish®, le premier vaccin contre la leishmaniose canine à AMM européenne. Dossier de presse du 1<sup>er</sup> juillet 2011, 54p.

VULPIANI M. P, IANNETTI L, PAGANICO D, IANNINO F, FERRI N (2011). Methods of Control of the *Leishmania infantum* Dog Reservoir : State of the Art. *Veterinary Medicine International*, 2011, 1-13.

WHO (2000). Leishmaniasis and *Leishmania*/HIV co-infection. *Report on global surveillance of epidemic-prone infectious diseases* [en ligne], 121-127. [http://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/WHO\\_CDS\\_CSR\\_ISR\\_2000\\_1/en/](http://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/WHO_CDS_CSR_ISR_2000_1/en/) (consulté en février 2013).

WHO (2007). Report of the Fifth Consultative Meeting on *Leishmania*/HIV Coinfection, 20–22 March 2007, Addis Ababa, Ethiopia. Geneva, Switzerland : WHO Document Production Services, 38p.

## Sites internet

Académie Nancy-Metz [en ligne]. Disponible sur : <http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/svt/ressourc/reschien/immuno/immacmar.htm> (consulté en février 2013).

ACCES (Actualisation Continue des Connaissances des Enseignants en Sciences) [en ligne]. Disponible sur : <http://acces.ens-lyon.fr/biotic/immuno/html/elisavar.htm> (consulté en février 2013).

Buffalo Zoo [en ligne]. Disponible sur : <http://www.buffalozoo.org> (consulté en 2013).

CDC (Centers for Disease Control and prevention) [en ligne]. Disponible sur : <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Leishmaniasis.htm> (consulté en janvier 2013).

CNRL (Centre National de Référence des *Leishmania*) : rapport annuel d'activité 2007 [en ligne]. Disponible sur : <http://www.parasitologie.univ-montp1.fr/doc/activit%E92007.pdf> (consulté en octobre 2013).

CVBD (Canine vector-borne diseases) [en ligne]. Disponible sur : [www.cvbd.org](http://www.cvbd.org) (consulté le 30/01/2013).

DEFRA (Department for Environment, Food and Rural Affairs) [en ligne]. Disponible sur : <http://www.defra.gov.uk> (consulté en février 2013).

ECDC (European Center for Disease Prevention and Control) [en ligne]. Disponible sur : [www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu) (consulté en février 2013).

ELISpotINFO [en ligne]. Disponible sur : [www.elispotinfo.com](http://www.elispotinfo.com) (consulté le 29 juin 2013).

EMA (European Medicines Agency) [en ligne]. Disponible sur : [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/veterinary/medicines/002232/smps/Positive/vet\\_smop\\_000042.jsp&mid=WC0b01ac058008d7aa](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/veterinary/medicines/002232/smps/Positive/vet_smop_000042.jsp&mid=WC0b01ac058008d7aa) (consulté en 2012).

INPES (2011). Epidémie de rougeole : présentation de la campagne de communication. Dossier d'information [en ligne]. <http://www.sante.gouv.fr/epidemie-de-rougeole-presentation-de-la-campagne-de-communication.html> (consulté en 2012).

Institut Pasteur (2013). Les vaccins du futur [en ligne]. Disponible sur : <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/presse/dossiers-de-presse/la-recherche-vaccinale-a-l-institut-pasteur/les-vaccins-du-futur> (consulté le 11 juillet 2013).



RAPSODI (PRE-clinical studies of a PSA-based human vaccine candidate targeting visceral, cutaneous and mucocutaneous Leishmaniasis and Development of the associated procedures for further clinical trials) [en ligne]. Disponible sur : <http://www.fp7-rapsodi.eu> (consulté le 02/07/2013).

San Diego Zoo [en ligne]. Disponible sur : <http://www.sandiegozoo.org> (consulté en 2013).

UMR, laboratoire de parasitologie-mycologie Montpellier [en ligne]. Disponible sur : [www.parasitologie.univ-montp1.fr/leish2.htm](http://www.parasitologie.univ-montp1.fr/leish2.htm) (consulté le 30/01/2013)

Université de Reims Champagne-Ardenne [en ligne]. Disponible sur : <http://www.univ-reims.fr/site/laboratoire-labellise/transmission-vectorielle-et-epidemiologie-surveillance-de-maladies-parasitaires-ea-4688/thematiques-de-recherche/entomologie/les-phlebotomes,11642.html> (consulté en février 2013)

Virbac France [en ligne]. Disponible sur : [www.virbac.fr](http://www.virbac.fr) (consulté en 2012).

WAZA (World Association of Zoos and Aquariums) [en ligne]. Disponible sur : <http://www.waza.org> (consulté en 2013).

WHO (World Health Organization) [en ligne]. Disponible sur : [http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis\\_maps/en/index.html](http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis_maps/en/index.html) (consulté le 25 janvier 2013 a).

WHO (World Health Organization) [en ligne]. Disponible sur : [http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv\\_coinfection/burden\\_hiv\\_coinfection/en/index.html](http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv_coinfection/burden_hiv_coinfection/en/index.html) (consulté le 26 janvier 2013 b).

## **Documents divers**

BANULS A-L, SENGHOR M, ROUGERON V (2010). Phlébotomes et leishmanioses – Etude des pathogènes et des hôtes vers une approche intégrative : EPHAI (Power Point en ligne).

Documentation VIRBAC.

Dictionnaire des médicaments vétérinaires DMV 2011.

JACQUIET P (2009). La leishmaniose à *Leishmania infantum*. Cours parasitologie ENVT.

MEKSI SONDOSS Gaied (2012), Les leishmanioses. Cours de collège de maladies infectieuses, microbiologie-parasitologie (Power Point en ligne).

TREVENNEC C (2009). Enquêtes épidémiologiques – échantillonnage. Cours épidémiologie ENVT.

VIRBAC, « Virbac info : spécial Canileish® », n°115, septembre 2011, 15 pages.

VIRBAC, « Canileish : technical product profile », 79 pages.

Auteur : Granier, Marie

Titre : Etude de la perception du vaccin contre la leishmaniose par les vétérinaires et les propriétaires de chiens en zone d'enzootie sur le territoire de France métropolitaine.

Résumé :

En septembre 2011, le premier vaccin contre la leishmaniose canine à avoir obtenu une AMM européenne, a été mis sur le marché en France.

Après une revue actualisée sur les leishmanioses dans le monde et les moyens de lutte, nous faisons le point sur la perception et l'utilisation de ce vaccin quelques mois après son lancement.

Pour cela, nous avons envoyé un questionnaire vétérinaire et 20 questionnaires clients à 600 cliniques vétérinaires échantillonnées en zone d'enzootie française de leishmaniose canine.

9 propriétaires sur 10 connaissent la leishmaniose (dont 13,1% par l'intermédiaire d'un chien malade), et 8 sur 10 ont déjà entendu parler du vaccin (parmi lesquels 20% en ont déjà fait bénéficier leur(s) chien(s)).

Le vétérinaire est considéré comme le premier interlocuteur. Il s'appuie sur une gestion multimodale du risque de leishmaniose. Plus de 1 praticien sur 2 recommandent la vaccination, mais toujours associée au moins à un traitement antiparasitaire.

Propriétaires et vétérinaires sont globalement favorables à la vaccination. Mais le prix élevé reste un élément dissuasif, et du recul sur les effets indésirables et l'efficacité de ce nouveau moyen de prévention sont attendus.

Mots-clés : leishmaniose, chien, vaccin, revue, enquête, perception, vétérinaires, propriétaires, France, enzootique.

---

Summary :

In September 2011, the first vaccine against canine leishmaniosis with European marketing authorization was launched in France.

After an updated review on leishmaniasis and their control strategies over the world, we focused on the perception and the use of this vaccine a few months after its launching.

For this, we sent a questionnaire to veterinarians and 20 questionnaires to dog owners in each of the 600 veterinary clinics sampled in the area where canine leishmaniosis is enzootic in France.

9 in 10 owners know canine leishmaniosis (13,1% of them through an ill dog), and 8 in 10 have already heard of the vaccine (20% of them have already had their dog vaccinated).

The veterinarian is considered as the first interlocutor. He uses a multimodal management of canine leishmaniosis exposure. More than 1 practitioner out of 2 recommends vaccination, but always in association with the use of topical insecticides.

Owners and vets are globally in favor of vaccination. But high prices remain dissuasive, and people need more hindsight on potential side effects and the therapeutic efficacy of this new means of prevention.

Key-words : leishmaniosis, dog, vaccine, review, survey, perception, veterinarians, owners, France, enzootic.