

6 : LA LV EN PRATIQUE VÉTÉRINAIRE

6.1 Comment faire le diagnostic différentiel de la LV canine ?

Le tableau suivant est un résumé du diagnostic différentiel de la LV canine :

Signes de LV	Autres causes possibles
Saignement du museau	traumatisme
Adénopathie	lymphome, leucémie
Ulcérations/nodules sur la peau ou autour de la gueule	virus, autres infections ou traumatismes
Nodules sous-cutanés	kystes sébacés
Dermatose et perte de poils (dépilation)	puces, autres ectoparasites (par ex. la gale), inflammation cutanée d'origine alimentaire, (dermatose), troubles surrénaliens.
Griffes allongées et déformées (onychoglyphose)	manque d'usure des griffes (par ex. à cause de la vie en appartement)
Anémie	alimentation insuffisante, endoparasites, empoisonnement alimentaire, tiques, puces
Emaciation	perte d'appétit (anorexie), famine, endoparasites

6.2 Recueil chez le chien des échantillons aux fins d'analyse sérologique

a) Pour le test d'agglutination directe

Piquer le bord de l'oreille avec un vaccinostyle et recueillir deux gouttes de sang sur papier filtre Whatman n° 3 (en faisant deux taches séparées de 1 cm de diamètre).

Etiqueter le papier filtre avec le nom du chien, le numéro de code et la date.

Laisser les gouttes de sang sécher à température ambiante, puis les conserver une fois sèches dans un sac en plastique ou un récipient scellé, soit en mettant un seul échantillon par récipient, soit en les séparant à l'aide de feuilles de papier filtre propres et sèches.

Il est possible de conserver les papiers filtres pendant une semaine à température ambiante, pendant des mois au **réfrigérateur** à 4°C ou pendant des années au congélateur à - 20°C. On utilise l'une des taches de sang pour le diagnostic et l'autre est gardée pour référence ou pour recommencer le test.

Cette méthode de recueil du sang s'emploie également parfois pour d'autres tests sérologiques comme l'**immunofluorescence** indirecte (IFI) ou le test immunoenzymatique par compétition (ELISA) (voir paragraphe b ci-dessous).

Les sérums (voir b ci-dessous) peuvent également servir pour la technique d'agglutination directe et donnent parfois des résultats plus précis.

- b) *Pour le test d'immunofluorescence indirecte (IFI) ou le test immunoenzymatique par compétition (ELISA) :*

Prélever 1 à 2 ml de sang veineux à l'aide d'une seringue et d'une aiguille stériles et placer l'échantillon dans un tube stérile sans anticoagulant. Laisser le sang coaguler, retirer le sérum, éliminer les hématies et conserver le sérum à 4° C au réfrigérateur ou à - 20° C s'il doit être gardé plus longtemps.

- c) *Pour le test de formoleucogélification*

Il est également possible d'employer le sérum pour ce test. Il n'est pas spécifique mais détecte les hyperglobulinémies souvent associées à la LV.

6.3 **Recueil des échantillons chez le chien aux fins d'analyse parasitologique**

Pour les analyses parasitologiques, le prélèvement des échantillons s'effectue à partir des organes suivants :

- a) *Les ganglions lymphatiques* : tout ganglion superficiel peut être utilisé mais l'on préfère celui derrière le genou (ganglion poplité) ou celui en région scapulaire (ganglion préscapulaire). Piquer le ganglion à l'aide d'une aiguille stérile (Dia 37): saisir la glande entre le pouce et les doigts, y introduire une aiguille 21 G fixée sur une seringue de 5 ml, presser doucement le ganglion plusieurs fois ou donner à l'aiguille plusieurs mouvements de va-et-vient avant de la retirer. Le produit d'aspiration doit être étalé sur une lame de verre propre et séché rapidement à l'air, par exemple en frottant le doigt sur le dos de la lame pour la chauffer légèrement et éliminer l'humidité de l'échantillon. Il est essentiel de ne pas prélever de sang durant la ponction de la glande et, s'il y en a, de ne pas en prendre pour la préparation du frottis.
- b) *La moelle osseuse* : recueillie de préférence par aspiration à partir de la pointe du

sternum au moyen d'une seringue de 5 ou 10 ml et d'une aiguille 21 G. Le produit d'aspiration sert à préparer un frottis sur une lame de verre propre qui est ensuite séchée à l'air comme dans le cas précédent.

- c) *Lu peau* : biopsie sous anesthésie locale. Un petit échantillon (par exemple 2 mm x 2 mm sur 2 mm de profondeur) est prélevé avec des ciseaux stériles et une pince ou à l'aide d'un poinçon stérile. Il faut ensuite tamponner le fragment avec du papier filtre sec pour éliminer l'excès de sang. Le frottis est réalisé par impression en pressant la face interne du fragment sur une lame de verre propre qu'on laisse sécher à l'air. Il vaut mieux effectuer la biopsie sur toute zone cutanée paraissant lésée ou anormale (par ex. dépilation, dépigmentation, squames ou rugosité inhabituelle). Le museau, le bord des oreilles ou la base de la queue sont fréquemment touchés et utilisés pour les biopsies.
- d) *Lapeaupar raclage* : raser la peau si nécessaire, la nettoyer à l'éthanol à 70 %, et la racler avec une lame stérile de scalpel jusqu'à ce que du liquide apparaisse (exsudation). Etaler ensuite l'exsudat sur une lame et laisser sécher à l'air.
- e) *Le nez* : en recueillant les sécrétions intranasales au moyen d'un tampon de coton. Frotter fermement le tampon à l'intérieur du nez pour obtenir une exsudation des muqueuses. Etaler ensuite l'exsudat sur une lame et laisser sécher à l'air.

6.4 **Comment réaliser l'examen microscopique des urélévements obtenus par biopsie ou ponction ?**

Fixer immédiatement les frottis secs avec le méthanol (alcool méthylique) absolu (100 %) pendant 2 minutes puis faire une coloration de Giemsa à pH 7 - 7,2. Conserver le méthanol dans des flacons hermétiquement clos pour éviter l'absorption d'humidité de l'air ambiant.

Colorer les frottis au Giemsa en suivant les explications données à l'appendice 5.

Examiner les frottis colorés au Giemsa à l'objectif à immersion (100 X). Les amastigotes de *Zeishmania* apparaissent comme de très petits organismes arrondis d'environ 3 μm x 5 μm à l'intérieur ou à l'extérieur des phagocytes (macrophages). Chaque amastigote contient un noyau rouge violacé, un cinétoplaste plus petit de la même couleur dans une teinte plus accentuée et un cytoplasme bleu pâle. La présence du noyau et du cinétoplaste dans ces organismes constitue la caractéristique particulière pour le diagnostic de la LV.

De plus, si les conditions locales se prêtent à la préparation d'un milieu de culture adapté (tel qu'il est décrit à l'appendice 4), il est possible d'inoculer, dans des conditions d'asepsie, ce milieu avec le produit de la ponction du ganglion ou de la moelle osseuse. Si les cultures ne sont pas contaminées par des bactéries ou des champignons, on peut y observer sous microscope des promastigotes flagellés libres 7 à 14 jours après

l'inoculation. Il est beaucoup plus difficile de mettre en culture les prélèvements de biopsies cutanées. Si l'on veut essayer, il faut tamponner la peau avec de l'alcool à 70° contenant quelques paillettes d'iode en solution puis la tamponner de nouveau avec de l'alcool à 70° simple avant de manipuler aseptiquement la biopsie.

6.5 **Comment réaliser le diagnostic sérologique ?**

Les tests sérologiques utiles sont la formoleucogélification (test au formol) en tube ou sur lame, s'il n'y a pas d'autres possibilités, le test d'agglutination directe, le test d'immunofluorescence indirecte (IFI) et le test immunoenzymatique par compétition (ELISA ou Dot-ELISA). Voir la description complète de ces tests aux appendices 6 (pour la formoleucogélification), 7 (pour l'agglutination directe), 8 (pour l'IFI) et 9 (pour ELISA).

Il est possible de réaliser la formoleucogélification et l'agglutination directe (si l'on dispose d'une source fiable et standardisée d'antigènes) dans les centres de soins de santé primaires en dehors d'un laboratoire. En revanche, IFI et ELISA nécessitent des installations de laboratoire et un équipement plus perfectionné, bien qu'un test ELISA rapide et des bandelettes réactives soient en cours de mise au point pour l'utilisation dans les centres de soins de santé primaires ou à domicile.

6.6 **Comment traiter les chiens infectés ?**

Il n'y a aucun moyen prouvé d'obtenir la guérison permanente des chiens. En Europe, pour avoir une amélioration clinique temporaire, on utilise le schéma thérapeutique répétitif suivant :

Antimoine pentavalent : dose quotidienne de 5 mg/kg pendant 14 à 28 jours, à recommencer tous les 5 à 6 mois.

Il y a rechute de l'infection dans presque tous les cas après chaque cure. Cette méthode de traitement pourrait induire la résistance des leishmanies à l'antimoine pentavalent, les chiens pouvant alors devenir des réservoirs de la parasitose humaine.

Il est donc recommandé de ne pas utiliser les médicaments destinés à l'homme pour traiter les chiens afin d'éviter ainsi le développement de parasites résistants.

6.7 **Comment éviter que les chiens infectés contaminent les phlébotomes ?**

Il n'existe actuellement aucun moyen d'éviter que les chiens infectés contaminent les phlébotomes. On n'a pas encore prouvé l'efficacité des colliers, des savons, des shampooings ou des pyréthrinoïdes pulvérisés sur l'animal.

6.8 **Comment protéger les chiens de l'infection ?**

Il n'existe aucune méthode pour protéger les chiens dans les zones d'endémie. Il semblerait que le seul moyen soit d'évacuer l'animal de la zone d'endémie.

6.9 **Quels sont les critères pour éliminer un chien infecté ?**

Noter que, dans certaines zones d'endémie de la LV humaine, on ne signale pas de LV canine ; les chiens ne sont alors pas considérés comme un réservoir de l'infection (voir appendice 2).

Dans de nombreuses zones d'endémie, les pouvoirs publics ont établi une politique et une législation sur l'élimination des chiens infectés par la LV.

En général, il faut éliminer tous les chiens à parasitologie positive, dans la mesure où ils peuvent être source de contamination pour les phlébotomes et de maladie chez l'homme.

On recommande souvent dans les zones d'endémie de la LV humaine d'éliminer tous les chiens séropositifs pour la leishmaniose dans la mesure où ils sont presque certainement porteurs d'infections actives et contribuent ainsi à la propagation de la maladie chez l'homme.

En Europe, on traite parfois les chiens par des cures répétées d'antimoine pentavalent, mais on ne considère pas que cette mesure soit indiquée si l'on utilise le même médicament contre la LV humaine et la LV canine, le traitement des chiens pouvant entraîner alors l'apparition de parasites résistants (voir paragraphe 6.6).

Dans de nombreuses zones d'endémie, l'application de la politique gouvernementale et du principe selon lequel tout chien à parasitologie positive doit être tué se heurte à la limitation des ressources financières et au manque de réactifs et de matériel pour éliminer les chiens sans souffrance pour eux (chapitre 7).

6.10 **A qui et comment notifier les cas confirmés de LV canine ?**

Les cas de LV canine doivent être notifiés aux autorités locales compétentes, vétérinaires et de santé publique, ce qui donnera des informations épidémiologiques importantes sur la distribution et l'extension potentielle de la maladie (voir chapitre 8).

6.11 **Quel suivi le vétérinaire doit-il envisager (pour informer et protéger la communauté) ?**

Les vétérinaires doivent participer à la conception et à la distribution du matériel (prospectus, posters, interventions dans les médias) visant à informer les propriétaires de chiens infectés et leurs familles sur l'épidémiologie de la LV, le pronostic d'une LV

canine et les risques potentiels en santé humaine. Les autres propriétaires de chien dans la zone touchée doivent également prendre connaissance des risques potentiels et des conséquences de la LV canine.

Les vétérinaires doivent également intervenir au niveau de l'éducation sanitaire et des activités participatives de la communauté.

6.12 **Quel est le minimum de matériel spécial et de services requis ?**

Pour l'examen microscopique des frottis colorés : microscope avec un objectif à immersion (50 X ou 100 X), lames de microscope, cuves de coloration, seringues (10 ou 20 ml), aiguilles, chlorure de sodium, phosphate disodique, colorant de Giemsa.

Il faut également avoir accès à des réactifs et du matériel de diagnostic sérologique de la LV canine (voir appendices 6 à 9).