

# Suspicion de leishmaniose en zone indemne

## Les analyses importantes pour asseoir le diagnostic

Changement climatique oblige, il convient de s'attendre à une extension géographique de la leishmaniose canine. Si le praticien exerçant en zone d'enzootie est rompu au diagnostic de cette parasitose, le vétérinaire qui exerce plus au nord a souvent en tête quelques clichés comme les « ongles de fakir », le « furfur leishmanien », l'épistaxis qui sont certes des symptômes existants, mais nullement systématiques. Quelques examens biologiques simples ou plus sophistiqués, comme la PCR, permettent d'étayer la suspicion de leishmaniose qui, rappelons-le, est une zoonose.



**Delphine RIVIERE**  
Département des Sciences  
Cliniques des Animaux de  
Compagnie et de Sport  
ENVT



**Didier LANORE**  
DVM, Praticien à  
Plaisance du Touch et chargé  
de cours et de consultation  
de cancérologie à l'Ecole  
Nationale Vétérinaire  
de Toulouse

La leishmaniose canine est une protozoose infectieuse due à la multiplication d'un flagellé *Leishmania sp.* dans les cellules du système des phagocytes mononucléés. Les zones d'endémie sont inhérentes à la présence du vecteur : le phlébotome.

La maladie concerne tous les pays du pourtour méditerranéen. En France, les foyers cévenol, languedocien, provençal et la Corse sont les plus connus.

Les signes cliniques sont très polymorphes avec un tableau clinique souvent peu comparable à celui décrit dans la littérature associant amyotrophie, polyadénomégalie, furfur, onychogribose... Ils sont donc d'autant moins évocateurs pour un vétérinaire exerçant en zone indemne, contrairement à un praticien en zone atteinte qui suspectera la maladie de manière plus systématique. La biologie et la cytologie sont alors des aides diagnostiques précieuses.

L'objectif de l'article est :

- de présenter les modifications biologiques et cytologiques qui peuvent orienter vers une leishmaniose.
- d'aider le praticien à choisir les examens complémentaires adaptés et à identifier les leishmanies sur une lame au microscope.

La présentation des cas cliniques suivants montre bien le polymorphisme de la présentation clinique et l'intérêt des examens complémentaires pratiqués.

### Un dogue allemand aux signes cliniques frustes

Woolfi est un chien mâle croisé dogue allemand âgé de 5 ans, vivant dans le Tarn. Il est présenté en consultation pour douleurs locomotrices, des difficultés à faire ses selles et une incontinence urinaire.

#### Examen clinique

Woolfi est très maigre, présente des lésions croûteuses et une alopecie sur la truffe, le bord libre des oreilles et les paupières.

Une splénomégalie est présente. Le reste de l'examen clinique est normal, aucune adénomégalie n'est objectivée.

L'examen orthopédique confirme une douleur à la manipulation

de la jonction lombo-sacrée, ainsi qu'à la palpation pression de nombreuses articulations.

L'interrogatoire du propriétaire laisse suspecter une polyuropolydipsie plutôt qu'une incontinence urinaire vraie.

#### Examens complémentaires de première intention

- L'analyse d'urines :

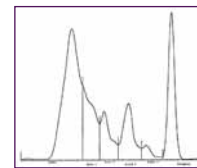
L'analyse biochimique donne un pH de 6,5, une densité de 1,020, et des plages nitrites, leucocytes et activité peroxydasique positive (3+) à la bandelette. La réaction de Heller est significative d'une forte protéinurie (4 mm). De très nombreux bacilles associés à des leucocytes sont observés au culot urinaire, laissant suspecter une infection du tractus urinaire.

- L'hémogramme permet de constater :

Une anémie normochrome normocytaire avec 7,4 g/dl d'hémoglobine. Les lignées des globules blancs et des plaquettes ne présentent pas d'anomalie.

- Les analyses biochimiques révèlent plusieurs modifications : une hyperprotidémie à 110g/l (VU : 48-66), une hypercréatininémie à 19 mg/l (VU : 5-15) et une hyperurémie à 0,61g/l (VU : 0,2-0,5). Les enzymes hépatiques (PAL et ALAT) sont dans les valeurs usuelles de l'espèce.

#### Examens complémentaires de seconde intention



- Une électrophorèse des protéines sériques est réalisée.

Les résultats chiffrés révèlent une augmentation des protéines sériques, une diminution du rapport

Albumine/Globulines secondaire à une hypoalbuminémie modérée, une diminution des  $\alpha 1$  globulines, et enfin une augmentation des  $\alpha 2$ ,  $\beta 2$  et  $\gamma$  globulines. Les anomalies morphologiques se traduisent par un pic rond et large des  $\alpha 2$  globulines et un bloc polyclonal en  $\beta \gamma$ .

	Valeur	Variation	VU Chien
Protéines sériques (g/l)	110	↑	60-75
Albumine	21	↓	22-35
Albumine/globulines	0,24	↓	0,5-1,2
$\alpha 1$	3,1	↓	5-8
$\alpha 2$	13,1	↑	5-10
$\beta 1$	10,7	→	5-11
$\beta 2$	17,7	↑	3-7
$\gamma$	144,4	↑	5-18

L'ensemble de ces anomalies est compatible avec un syndrome inflammatoire chronique, compatible avec une origine infectieuse type leishmaniose, ehrlichiose ou tumorale (lymphome), ou maladie à médiation immune.

- Un myélogramme montre des leishmanies en grande quantité.
- Une PCR leishmaniose sur sang EDTA confirme le diagnostic émis suite à la ponction de moelle osseuse

## En résumé cas n°1

Clinique	Biologie	Diagnostic
Amaigrissement	Protéinurie	Myélogramme
Douleurs articulaires, ITU boiterie		PCR
Splénomégalie	IRC	
Lésions croûteuses et alopeciques	Anémie normocytaire normochrome Dysprotéinémie (hypoalbuminémie et hyper $\beta$ globulinémie)	
Pas d'adénomégalie		

## Un Labrador abattu et févreux

Spoky est un Labrador mâle castré de 5 ans, présenté en consultation pour abatement, anorexie et hyperthermie (39,9°C). Spoky a des antécédents d'ulcères aux coussinets.

### Examen clinique

Le chien est en mauvais état général, avec un pelage terne et une amyotrophie marquée en région des fosses temporales.

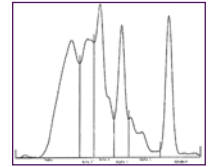
### Examens complémentaires

- L'analyse d'urines révèle une protéinurie marquée à la réaction de Heller (4 mm), une densité égale à 1,030 et un pH estimé à 6. Aucune anomalie n'est observée à la bandelette.
- La numération formule met en évidence une anémie avec 7 g/dl d'hémoglobine associée à une leucopénie à 4600 GB/ $\mu$ l.
- Les paramètres rénaux sont modifiés : une hypercréatininémie (45 mg/l) et une hyperurémie (1,61 g/l) sont présentes. Les protéines totales sont dans les valeurs usuelles de l'espèce : 74 g/l.
- L'électrophorèse des protéines sériques est également réalisée, bien que les protéines totales soient normales.

Le rapport Albumine/Globulines est très fortement diminué, conséquence d'une sévère hypoalbuminémie et d'une augmentation des globulines ( $\beta$  et  $\gamma$ ). Le profil dessine un pic étroit, élevé et pointu des  $\alpha$ 2 mais sans augmentation de celles-ci. Les  $\beta\gamma$  globulines dessinent un bloc polyclonal important. Ce profil est compatible avec un processus inflammatoire à la fois aigu et chronique, associé à une hypoalbuminémie d'origine rénale (fuite glomérulaire).

L'électrophorèse des protéines présente ici un grand intérêt pour visualiser la distribution de l'ensemble des protéines qui se révèle anormale alors que la protéinémie est normale.

- Une ponction de moelle osseuse est réalisée et l'analyse cytologique met en évidence de nombreuses leishmanies



	Valeur	Variation	VU Chien
Protéines sériques (g/l)	74	→	60-75
Albumine	9,9	↓	22-35
Albumine/globulines	0,15	↓	0,5-1,2
$\alpha$ 1	5,1	→	5-8
$\alpha$ 2	9,3	→	5-10
$\beta$ 1	16,1	↑	5-11
$\beta$ 2	12,7	↑	3-7
$\gamma$	20,9	↑	5-18

## En résumé cas n°2

Clinique	Biologie	Diagnostic
Mauvais état général	Protéinurie	Myélogramme
Fièvre d'origine indéterminée	IRC	
Dysorexie	Anémie normocytaire normochrome	
Amyotrophie	Leucopénie Dysprotidémie (hypoalbuminémie et hyper $\beta$ globulinémie)	
Pas d'adénomégalie		

## Choix des analyses et leur interprétation

Les diverses analyses réalisées chez les trois chiens dont le cas est rapporté ont chacune leur indication, il convient de les interpréter à la lumière du contexte clinique et de la région d'origine de l'animal.

### L'analyse d'urines

Les lésions glomérulaires entraînent le passage de protéines dans les urines, visualisées par la réaction de Heller, souvent fortement positive de même que pour la bandelette urinaire. De manière fréquente, la leishmaniose provoque une insuffisance rénale avec une baisse attendue de la densité urinaire. Mais la concentration élevée en protéines dans les urines augmente la densité, masquant alors la dilution de celles-ci.

Élément évocateur :  
Protéinurie massive d'origine glomérulaire

### L'hémogramme

L'anémie est souvent présente, elle est non régénérative microcytaire hypochrome lorsqu'elle est secondaire à des saignements chroniques sur des ulcères, ou normocytaire normochrome lorsqu'elle est d'origine inflammatoire. Une leucocytose en début d'évolution ou une leucopénie dans les formes avancées sont possibles, la thrombopénie est beaucoup plus fréquente.

Elément évocateur : Anémie

### La biochimie sanguine

L'hyperprotidémie est l'anomalie majeure que l'on peut mettre en évidence. Cependant, il est possible d'avoir une protidémie dans les valeurs usuelles comme dans le cas de Spoky, où l'hypoalbuminémie compense l'hyperglobulinémie. Il est donc toujours judicieux de calculer la valeur des globulines (Protéines totales – albumine = globulines g/l) pour observer une modification de ces valeurs, et/ou de faire une électrophorèse des protéines sériques.

Éléments évocateurs :  
Hyperprotidémie et hypoalbuminémie

### Le fibrinogène

Le fibrinogène est un témoin précoce et mesurable de l'inflammation aiguë. Les valeurs usuelles sont constantes (2 à 4 g/l chez le chien) quelle que soit la méthode utilisée. Il se dose sur plasma et non sur sérum, il n'apparaît donc pas sur un tracé d'électrophorèse. Sa concentration plasmatique double en 24h lors d'inflammation aiguë.

### L'électrophorèse des protéines

Elle est un examen complémentaire très intéressant et souvent évocateur de certains types de pathologies, avec des profils plus ou moins caractéristiques. Le cas n°2 traduit la pertinence de cet examen complémentaire en révélant une dysprotéinémie, non objectivée par la simple mesure des protéines totales plasmatiques.

Elément évocateur : Bloc  $\beta\gamma$

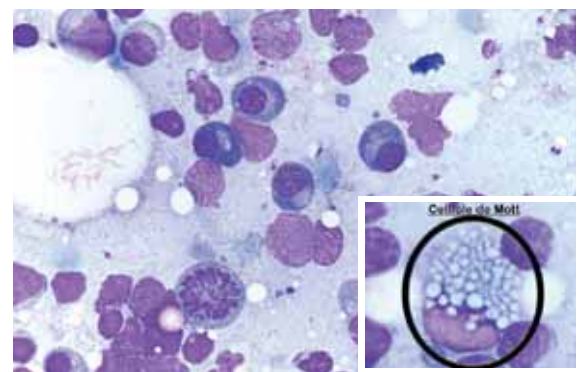
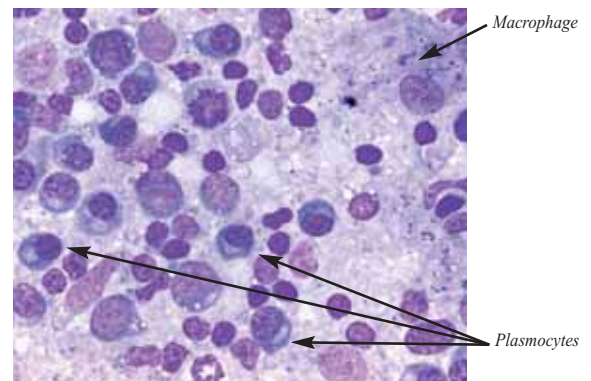
## La cytologie permet le diagnostic de certitude

La cytologie a un intérêt déterminant lors de suspicion de leishmaniose.

### Cytologie des nœuds lymphatiques

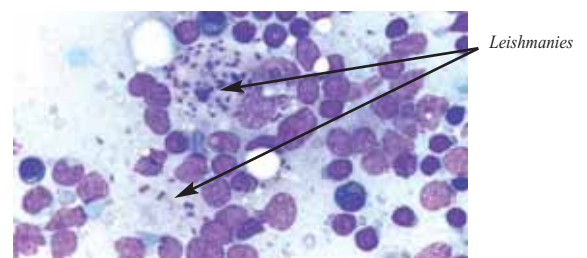
La dissémination des amastigotes provoque une réaction immunitaire de l'hôte qui concerne les tissus lymphoïdes. Ainsi, la polyadénomégalie est-elle un signe très fréquent dans les formes cliniques de leishmaniose. Des modifications cytologiques sont observées parallèlement à la modification macroscopique, mais elles peuvent également être présentes sur des nœuds lymphatiques non hypertrophiés. Il est donc important de les ponctionner, même s'ils semblent de taille normale. Plus rarement, les nœuds lymphatiques peuvent être hypertrophiés sans anomalies cytologiques associées. L'hyperplasie lymphoïde est de loin la modification majeure observée lors d'infiltration par des leishmanies. Elle peut être associée à une augmentation de la proportion en macrophages, on parle alors d'adénite granulomateuse. L'hyperplasie lymphoïde se caractérise par une population lymphocytaire prédominante (plus de 50 % de petits lymphocytes, moins de 25% de moyens et grands

lymphocytes) et des plasmocytes représentant plus de 5 % de la population nodale. La présence de plasmocytes s'explique par une activation polyclonale et la prolifération de lymphocytes B. Des cellules de Mott peuvent être aussi observées, elles correspondent à des plasmocytes sécrétant des immunoglobulines contenues dans des vacuoles cytoplasmiques appelées corps de Russel. Beaucoup plus rarement, des adénites neutrophiliques associées ou non à une hyperplasie lymphoïde peuvent être observées dans des cas de leishmaniose.



Hyperplasie plasmocytaire dans un nœud lymphatique.

Éléments évocateurs :  
hyperplasie lymphoïde, adénite granulomateuse et/ou hyperplasie plasmocytaire



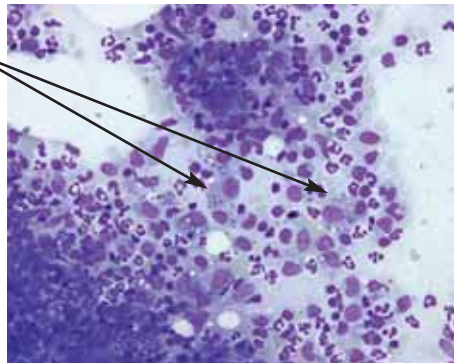
Leishmanies libres et dans le cytoplasme d'un macrophage dans un nœud lymphatique, hyperplasie plasmocytaire associée.

### Cytologie de la moelle osseuse

La moelle est un tissu qui est souvent très riche en leishmanies. On peut observer, comme dans les nœuds lymphatiques, une augmentation des proportions relatives en plasmocytes, macrophages et/ou lymphocytes.

La moelle s'examine comme tout prélèvement cytologique à faible grossissement afin d'évaluer les différentes lignées cellulaires et éventuellement suspecter la présence de leishmanies. Une hyperplasie plasmocytaire et/ou granulomateuse révélées par le comptage manuel de la moelle, doit entraîner la recherche du parasite. Celui-ci sera recherché préférentiellement dans les zones denses en macrophages. Il peut être libre dans le fond du frottis suite à une lyse des macrophages ou intracellulaire, en nombre variable. Lors d'hyperplasie plasmocytaire importante, le myélome multiple doit faire partie du diagnostic différentiel.

Leishmanies  
dans des  
macrophages



Myélogramme x400

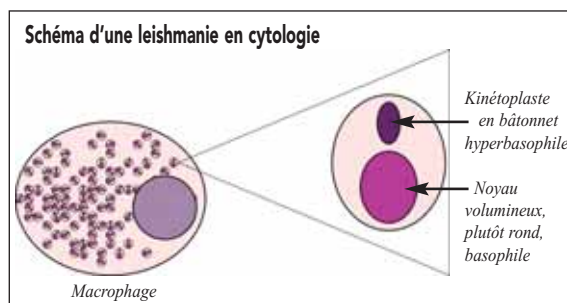
Éléments évocateurs :  
hyperplasie granulomateuse et/ou plasmocytaire

### Cytologie cutanée

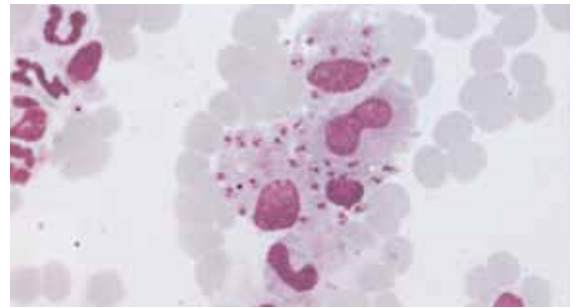
La cytologie peut également se faire sur des lésions cutanées, par cytoponction des nodules par exemple. Certaines lésions cutanées peuvent être riches en parasites et un infiltrat de cellules lymphoïdes est également présent (lymphocytes, plus ou moins des histiocytes et d'autres cellules inflammatoires).

### Reconnaître le parasite

Les leishmanies sont des protozoaires, dont la forme visualisée est la forme amastigote. Elles sont ovoïdes, contenant un noyau vésiculaire clair et un kinétoplaste en forme de bâtonnet apparaissant plus basophile en coloration May Grünwald-Giemsa. Afin d'aboutir à un diagnostic, les deux parties doivent être bien visualisées, et il ne faut pas hésiter à chercher d'autres parasites plus évocateurs en cas de doute. Si la présence de leishmanies n'est pas frappante à faible grossissement, la mise en évidence peut s'avérer longue et demande alors un lecteur expérimenté.



La cytologie est un examen très spécifique mais peu sensible pour la mise en évidence du parasite.



Leishmanies dans des macrophages, x 1000

### La PCR permet une confirmation

La PCR est une méthode d'analyse génétique qui permet de détecter la présence du génome d'un agent pathogène, *Leishmania sp* dans notre cas, dans différents prélèvements biologiques.

C'est une méthode très sensible et spécifique qui peut se réaliser sur des raclages cutanés, des biopsies de peau, du sang, des ponctions ganglionnaires et/ou de la moelle. Ces deux derniers prélèvements sont des prélèvements souvent très riches en parasites. Il est possible et intéressant de faire des recherches PCR sur un mélange de différents prélèvements, par exemple sang + moelle osseuse ou raclage cutané + sang ou sang + ponction ganglionnaire + moelle osseuse, ces mélanges permettent d'augmenter la sensibilité diagnostique en enrichissant les spécimens obtenus, car chaque type de prélèvements ne contient pas la même charge virale. En effet, la moelle osseuse et le nœud lymphatique peuvent contenir des leishmanies très longtemps et rester positifs en PCR, tandis que la charge virale dans le sang peut rapidement devenir nulle ou inférieure au seuil de détection de la méthode et donc être négatif. Les prélèvements sont conservés uniquement dans des tubes secs ou EDTA, à température ambiante s'ils sont envoyés rapidement ou au frais si l'envoi est différé. Aucune condition de transport particulière n'est nécessaire. La PCR en temps réel présente l'avantage de pouvoir quantifier la charge en parasites par rapport à la PCR classique, ce qui est très intéressant dans le suivi thérapeutique.

PCR :  
combiner différents prélèvements :  
moelle, nœud lymphatique, raclage cutané, sang :  
jamais de tube hépariné

La leishmaniose est une maladie infectieuse en voie d'extension géographique. Les signes cliniques sont très polymorphes et parfois peu évocateurs pour un praticien peu familier avec cette affection. Des outils diagnostiques simples sont à sa disposition : la biologie clinique oriente puis la cytologie conduit bien souvent au diagnostic final ainsi qu'à une grande satisfaction personnelle.